

THÈSE

PRÉSENTÉE À

L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 1

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

Par **Yann AMINOT**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : Chimie Analytique et Environnement

**Etude de l'impact des effluents urbains sur la qualité des eaux de
la Garonne estuarienne : application aux composés
pharmaceutiques et aux filtres UV**

Directeur de recherche : Hélène BUDZINSKI

Soutenue le : 6 décembre 2013

Devant la commission d'examen formée de :

M. CHOUBERT, Jean-Marc
M. GAGNON, Christian
M. LITRICO, Xavier
M. MAZELLIER, Patrick
Mme. BUDZINSKI, Hélène

Ingénieur de recherche, IRSTEA, Lyon
Chercheur, Centre Saint-Laurent, Montréal
Directeur du LyRE (HDR), Lyonnaise des Eaux
Professeur, Université Bordeaux 4
Directrice de recherche, CNRS

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Président du jury
Directrice de thèse

Résumé

La concentration des populations et des activités industrielles due à l'urbanisation croissante engendre, à proximité des centres urbains, une augmentation des apports au milieu aquatique, récepteur des effluents associés à ces activités. Les médicaments et les filtres UV, véhiculés par ces effluents, sont une famille de micropolluants organiques aux structures et aux propriétés physico-chimiques très hétérogènes. En outre, la présence dans l'environnement de médicaments, composés biologiquement actifs par nature, n'est pas sans poser des questions tant sur leur toxicité que sur leur persistance. Étudiés depuis une dizaine d'années, les connaissances de leur impact sur les hydrosystèmes côtiers sont en effet encore très parcellaires.

Dans ce cadre, la Garonne estuarienne est un milieu sensible, réceptacle ultime drainant un bassin versant de 56 000 km². Ce système aquatique, caractérisé par d'importants débits et soumis à la marée, reçoit les effluents de l'agglomération de Bordeaux *via* majoritairement deux stations d'épuration totalisant plus de 700 000 équivalents-habitants. Il est donc nécessaire de qualifier les apports en médicaments et en filtres UV à cet hydrosystème ainsi que d'en étudier le devenir après rejet. Ces travaux visent donc à caractériser les effluents urbains de l'agglomération de Bordeaux et les eaux de la Garonne estuarienne par une approche moléculaire d'une part et systémique d'autre part.

Les protocoles multi-résidus pour l'analyse de 53 médicaments et 6 filtres UV dans les effluents urbains et les eaux de surface, ainsi que pour l'analyse des médicaments dans les matrices solides (sédiments, matières en suspension) ont été développés puis validés dans une première partie. Des échantillonneurs passifs de type POCIS ont également été développés pour les médicaments et les filtres UV en vue d'un suivi intégratif continu de la Garonne estuarienne.

Dans un second temps, la contamination des effluents urbains, avant et après traitement, a été abordée au travers du suivi annuel des deux stations d'épuration à l'étude. L'examen des performances des procédés d'épuration a montré une efficacité limitée pour l'élimination des analytes des eaux usées. Les suivis intra-journaliers et annuels ont mis en évidence une forte variabilité des concentrations des analytes à l'échelle de la journée mais une variabilité inter-journalière et saisonnière faible. Par la suite, une première étude d'impact de rejets urbains a porté sur la Jalle de Blanquefort, rivière périurbaine au nord de Bordeaux recevant les effluents traités d'une station d'épuration de 85 000 équivalents-habitants. Les résultats montrent que le rejet d'eaux traitées constitue la source principale de la contamination de la rivière, les médicaments s'adsorbant aux matières en suspension et aux sédiments, en faibles proportions. Concernant la Garonne estuarienne, la variation annuelle des niveaux de contamination en 6 points de l'estuaire a été évaluée. Ce suivi montre un impact des effluents de l'agglomération de Bordeaux dépendant des comportements conservatifs ou dégradables des molécules. D'autre part, une dégradation saisonnière *in-situ* des médicaments a été observée, ainsi qu'une adsorption de certains analytes sur les matières en suspension. Les expériences de dégradation conduites *in-vitro* ont permis de mettre en évidence l'influence de la charge particulaire sur cette dégradation principalement biotique ainsi que de qualifier les dégradabilités relatives des molécules d'intérêt.

Mots-clés : médicaments, filtres UV, stations d'épuration, estuaire de la Gironde, dégradation

Occurrence and fate of pharmaceuticals and UV filters in urban effluents and in the estuarian Garonne River

Abstract

The growing urbanization, by concentrating people and industrial activities, causes an increase in pollutant inputs to the aquatic environment. Among them, pharmaceuticals and UV filters gather a large number of molecules of various structures and physico-chemical properties. As pharmaceuticals are designed to be biologically active, their presence in the aquatic environment is of great concerns in terms of toxicity and persistence. Despite being studied for more than 15 years, little is known on the occurrence and fate of these molecules in coastal hydrosystems.

In this context, the Garonne, a 647 km French river located in the South-West of France, drains a 56 000 km² catchment area. It is impacted in its estuarian part by the effluents of Bordeaux city, the sixth most populated urban area in France. Treated wastewaters of more than 700 000 population-equivalent go through two main waste water treatment plants of Bordeaux urban area before being discharged in the Garonne river, 100 km upstream its mouth in a part of the river submitted to tide cycle. It is thus necessary to qualify both sources and fate of pharmaceuticals and UV filters in this environment. This work aims at characterizing Bordeaux city urban effluents and Garonne riverwater by a combined molecular and systemic approach.

Multi-residue protocols for the analysis of 53 pharmaceuticals in urban effluents, riverwater, sediments and suspended solids as well as the analysis of 6 UV filters in water matrices have been developed and validated in a first part. POCIS passive samplers have also been developed for a continuous integrative monitoring of the pharmaceutical and UV filter contamination in the Garonne.

In a second part, contamination of the influents and effluents of the two studied waste water treatment plants has been evaluated through a one-year monitoring. The treatment processes have revealed limited performances to fully remove pharmaceuticals and UV filters from waste water. A specific intra-day monitoring has revealed important variations in the analyte concentrations while the inter-day and seasonal variabilities remain low. The impact of a treated waste water discharge has been assessed on the Jalle de Blanquefort, a periurban river in the north of Bordeaux receiving the effluents of a 85 000 population-equivalent waste water treatment plant. Results have revealed that this input is the main contributor to the riverwater contamination and that some pharmaceuticals can adsorb on suspended matter but to a limited extent. Concerning Garonne river, the annual variations of pharmaceutical concentrations have been evaluated in six sampling sites from the upstream to downstream Bordeaux. The impact of Bordeaux city effluents is noticeable on the most degradable compounds and is minor on the most conservative ones. A seasonal *in-situ* degradation has been observed, as well as the partition of some analytes to suspended matter. *In-vitro* degradation studies have emphasized the key role of suspended matter in this biotic degradation and enabled evaluation of the relative degradability of analytes.

Keywords: pharmaceuticals, UV filters, waste water treatment plants, Gironde estuary, degradation

Avant-propos

Ces travaux ont été réalisés dans le cadre du programme ETIAGE (Etude intégrée de l'effet des apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne estuarienne). Les partenaires financiers Lyonnaise des Eaux, Communauté Urbaine de Bordeaux, Agence de l'Eau Adour-Garonne et la Région Aquitaine (FEDER) sont vivement remerciés. L'Agence Régionale de Santé Aquitaine (ARS) est également remerciée pour son concours financier à l'étude sur la Jalle de Blanquefort. L'ensemble des collaborateurs académiques (CNRS, Université Bordeaux 1, IRSTEA), institutionnels et privés sont également remerciés pour les échanges scientifiques nourris qui ont permis le bon déroulement de cette thèse et l'élaboration de ce manuscrit.

A titre plus personnel, je remercie chaleureusement Jean-Marc Choubert et Christian Gagnon pour avoir accepté de rapporter ces travaux, m'avoir encouragé et conseillé pour l'amélioration de la version finale du manuscrit. Leurs questions et remarques ainsi que celles de Xavier Litrico et Patrick Mazellier lors de la soutenance ont fait de cet exercice périlleux un moment très appréciable que je serais prêt à repasser ! J'espère poursuivre ces échanges dans des collaborations futures.

J'exprime toute ma reconnaissance à Hélène, pour m'avoir accordé sa confiance tout au long de cette aventure, commencée en 2010 en stage de fin d'étude. Du terrain à la paillasse, des réunions aux conférences ni les idées ni l'enthousiasme et les moyens pour les concrétiser n'ont fait défaut. Se former à la recherche dans un tel cadre est un privilège.

Une pensée également pour tous les collègues du LPTC et d'EPOC avec qui j'ai pu échanger. Evoluer dans un environnement de travail studieux mais jovial est une chance. Cette expérience n'aurait certainement pas été la même sans la franche camaraderie qui nous a liés.

Enfin, je remercie ma famille et mes amis qui ont fait preuve d'un soutien sans faille en toutes circonstances. Ils ont largement équilibré la balance de l'épanouissement des 3 années passées !

Sommaire

Sommaire

Abréviations	15
Introduction	17

Chapitre 1 : Cadre de l'étude

1	Médicaments et filtres UV : des micropolluants organiques traceurs de rejets urbains.....	27
2	Diversité et usage des médicaments.....	28
3	Cas des Filtres UV	38
4	Les molécules étudiées.....	39
5	Comportement des molécules d'intérêt en STEP	62
6	Comportement des molécules d'intérêt dans l'environnement.....	65
7	L'hydrosystème de la Gironde soumis aux rejets urbains.....	70
8	Cadre scientifique : Le programme Etiage	80

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

1	Description des sites étudiés et échantillonnage associé	87
2	L'étude spécifique par échantillonneur passif	101
3	Préparation des échantillons.....	107
4	Analyse par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse	114
5	Expression des résultats	118
6	Expériences de dégradation <i>in-vitro</i>	121

Chapitre 3 : Validation des méthodes

1	Développements et validations méthodologiques.....	129
1.1	Performances machine.....	129
1.2	Protocole SPE.....	140
1.3	Autres protocoles d'extraction.....	157
1.4	Nécessité d'usage d'étalons internes adaptés	164
1.5	Validation des étapes préparatives préalables	168
1.6	Cas des formes conjuguées dans les effluents.....	174
1.7	Conclusions.....	180
2	Développement des POCIS	185
2.1	Calibrations en laboratoire.....	185
2.2	Validation <i>in-situ</i>	199
2.3	Application de l'outil à la Jalle de Blanquefort.....	204
2.4	Application de l'outil à la Gironde.....	205
2.5	Conclusions.....	216

Chapitre 4 : Résultats environnementaux

1	Caractérisation et étude des variabilités en stations d'épuration	221
1.1	Etude des eaux d'entrée de STEP	221
1.2	Etude des eaux de sortie de STEP	229
1.3	Rendements d'épuration.....	236
1.4	Variabilités des concentrations en STEP	246
1.5	Etude des filtres UV dans les effluents.....	263
1.6	Synthèse sur les apports à la Garonne	268
1.7	Approche complémentaire par analyse non ciblée	270
1.8	Conclusions.....	279
2	Cas d'un rejet de STEP dans une rivière à faible débit : la Jalle de Blanquefort	283
2.1	Contamination de la phase dissoute	283
2.2	Contamination des particules.....	292
2.3	Contamination des sédiments.....	298
2.4	Etude de la conservativité des analytes	302
2.5	Conclusions.....	305
3	Etude de la contamination de la Gironde	309
3.1	Suivi continu de l'estuaire par prélèvement ponctuel	309
3.2	Suivi continu de l'estuaire par échantillonnage passif	318
3.3	Cas des apports amont.....	324
3.4	Etudes complémentaires.....	331
3.5	Etude de la partition dissous-particulaire	340
3.6	Devenir des molécules dans l'estuaire	344
3.7	Conclusions.....	350
4	Approche <i>in-vitro</i> du potentiel de dégradation du bouchon vaseux	355
4.1	Observations préliminaires	355
4.2	Evolution des concentrations totales.....	360
4.3	Partition dissous-particulaire	371
4.4	Approche complémentaire par analyse non ciblée	377
4.5	Conclusions.....	380
	Conclusion et perspectives	383
	Annexes	399
	Productions scientifiques	453
	Références bibliographiques	483

Abréviations

4-MBC	4-MéthylBenzylidène Camphre
ACP	Analyse en Composantes Principales
ATC	Anatomique, Thérapeutique, Chimique
CHE	Clos de Hilde, effluent d'entrée
CHET1	Clos de Hilde, effluent de sortie traitée 1
CHET2	Clos de Hilde, effluent de sortie traitée 2
CHSG	Clos de Hilde, effluent de sortie générale
CUB	Communauté Urbaine de Bordeaux
DO	Déversoir d'Orage
ECPM	Eaux Claires Parasites Météoriques
ECPP	Eaux Claires Parasites Permanentes
EH	Equivalent-Habitant
EHMC	EthylHexyl MéthoxyCinnamate
EU strictes	Eaux Usées strictes (= hors ECPP et ECPM)
HAP	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
K_{ow}	Coefficient de partage octanol-eau
LCMSMS	Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem
LD	Limite de Détection
LFE	Louis Fargue, effluent d'entrée
LFED	Louis Fargue, effluent décanté
LFET	Louis Fargue, effluent de sortie par traitement biologique
LFSG	Louis Fargue, effluent de sortie générale
LQ	Limite de Quantification
LyRE	Centre R&D de Lyonnaise des Eaux à Bordeaux
MAGEST	MArel Gironde ESTuaire
MES	Matières En Suspension
MRM	Multiple Reaction Monitoring
ODPABA	Acide Octyl Diméthyl <i>p</i> -AminoBenzoïque
PCB	PolyChloroBiphényle
PEHD	PolyEthylène Haute Densité
PES	PolyEtherSulfone
POCIS	Polar Organic Chemical Integrative Sampler
PRC	Composé de Performance et de Référence
psu	Practical Salinity Unit
SPE	Extraction sur Phase Solide
STEP	STation d'EPuration

Introduction

Avec une estimation de plus de 75 % de la population européenne vivant en ville en 2020 (United Nations, 2012), les conséquences de l'urbanisation croissante et des activités anthropiques associées représentent un enjeu majeur des décennies à venir. La fragmentation des écosystèmes, la détérioration de la qualité de l'air et l'augmentation de la pollution de l'eau sont autant d'effets directs sur les systèmes, les effets indirects étant plus incertains mais pouvant inclure changement de l'albédo et modifications locales de l'évapotranspiration et des précipitations (prévisions du GIEC, Parry *et al.*, 2007). Les modes de vie urbains sont estimés responsables de 80 % des émissions de dioxyde de carbone et consommateurs de 75 % de l'énergie mondiale (Salles *et al.*, 2013). Sur le volet de la pollution des eaux, la concentration des populations, des activités industrielles et urbaines et des transports est responsable d'une pression sur le milieu aquatique, par l'intermédiaire des rejets urbains, vecteurs de multiples polluants (matière organique et azotée, micropolluants métalliques et organiques).

La production mondiale de substances chimiques est abondante et variée puisqu'elle atteint actuellement 400 millions de tonnes pour 100 000 substances recensées sur le marché communautaire européen (Commission européenne, 2001), ces substances étant autant de potentiels polluants du milieu aquatique. Les usages urbains englobent les substances que nous pouvons émettre au quotidien comme les hydrocarbures et les métaux associés aux transports, les détergents et additifs des divers produits d'entretien, les phytosanitaires utilisés dans les jardins ou la matière organique et les micropolluants excrétés par le corps humain, à l'instar des médicaments. Concernant les micropolluants organiques, on regroupe les dizaines de différentes classes en deux grandes catégories : les polluants organiques persistants, ou POP, toxiques et peu dégradables et les polluants non persistants, parmi lesquels on compte de nombreux micropolluants émergents. Bien qu'il existe des POP émergents, cette catégorie de polluants se distingue par l'ancienneté de leur étude et la connaissance de leur toxicité et de leur devenir environnemental. Ainsi, l'utilisation des polychlorobiphényles (PCB) a progressivement été réduite au cours des années 70 suite à des préoccupations toxicologiques (en particulier l'intoxication de Yusho, Japon, 1968 ; Hammond *et al.*, 1972) et finalement interdites en 1987 en France. *A contrario*, on qualifie de micropolluants émergents les molécules non pas d'usage récent mais d'intérêt récent, à savoir les médicaments, les produits cosmétiques, les détergents ou les retardateurs de flamme phosphatés. Les médicaments et les produits cosmétiques ont été détectés dans les eaux de surface dans les années 80 (Richardson et Bowron, 1985), mais l'article emblématique de Daughton et Ternes (1999) marque le début de l'intérêt de la communauté scientifique pour ce sujet. Si cela fait plus de 10 ans que ces composés sont étudiés, les connaissances sur la toxicité et le devenir des milliers de médicaments et de produits cosmétiques, en particulier les filtres UV, sont encore parcellaires (Fent *et al.*, 2006) ; de plus ces molécules constituent un groupe très hétérogène en termes de natures chimiques, leurs propriétés devant être abordées individuellement (Fatta-Kassinos *et al.*, 2011).

Les écosystème côtiers, à l'interface entre le bassin-versant et la mer, sont affectés par des apports continentaux et par des apports locaux puisqu'on estime en France que 36 % de la population vit à moins de 75 km du littoral (donnée année 2000, The World Bank, 2009). Les médicaments et les filtres UV, véhiculés par les effluents urbains partiellement traités en station d'épuration, sont déversés continuellement dans le milieu aquatique récepteur. Dans ce contexte, la Garonne estuarienne, réceptacle ultime caractérisé par d'importants débits et soumis à la marée, reçoit les rejets amont associés à un bassin versant de 56 000 km², d'une population estimée à 4 millions d'habitants, et ceux locaux de l'unité urbaine de Bordeaux (près de 840 000 habitants). Cet

hydrosystème, formant, après sa confluence avec la Dordogne, la Gironde, le plus vaste estuaire d'Europe, est pourtant vulnérable. De nombreux poissons migrateurs d'intérêt économique comme l'anguille et la lamproie transitent par l'estuaire, les populations d'anguilles étant en outre en déclin (Briand *et al.*, 2004). Il représente une zone de nurserie indispensable pour les juvéniles de nombreux poissons marins du Golfe de Gascogne et abrite la dernière population naturelle d'esturgeon européen (Williot *et al.*, 2004). D'autre part, le fonctionnement hydrosédimentaire de la Gironde est complexe, avec une zone de forte turbidité, ou bouchon vaseux, dans laquelle une intense minéralisation de la matière organique particulaire est observée (Abril *et al.*, 1999). D'autre part, les temps de résidence des eaux et des particules dans l'estuaire sont élevés, variant de quelques jours à 3 mois pour l'eau et jusqu'à 2 ans pour les particules (Jouanneau et Latouche, 1981).

Quand on considère les apports d'une part et la réactivité et la sensibilité de l'hydrosystème d'autre part, il apparaît nécessaire de caractériser les sources et le devenir des médicaments et des filtres UV dans la Garonne estuarienne et la Gironde. En effet, ces molécules ubiquistes ont été quantifiées dans des effluents urbains (Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013 ; López-Serna *et al.*, 2010 ; Soulier *et al.*, 2011) mais leur occurrence et leurs variabilités dans les eaux usées bordelaises n'ont jamais été documentées. La dynamique de ces molécules dans l'hydrosystème récepteur des effluents est également inconnue, les médicaments y ayant été détectés ponctuellement (Togola, 2006). Enfin, bien que ces molécules puissent présenter une dégradabilité notable (Benotti et Brownawell, 2009), la connaissance des processus biotiques ou abiotiques intervenant dans la dégradation de ces composés reste très parcellaire. Les problématiques de recherche visent ainsi à renseigner quels sont les apports de médicaments et de filtres UV aux stations d'épuration de l'agglomération de Bordeaux et quelles sont les performances de traitement de ces stations d'épuration vis-à-vis des composés d'intérêt (1). Une fois l'apport local étudié, sa part relative par rapport aux apports amont doit être précisée (2). L'identification des processus affectant les composés après leur rejet dans le milieu (3) ainsi que l'élucidation des éventuels rôles sur le devenir des effluents joués par la présence du bouchon vaseux et la stagnation résiduelle des eaux en période d'étiage (4) permettent enfin de décrire le devenir des molécules étudiées dans l'hydrosystème de la Gironde.

La réponse à ces questions a été abordée par une double approche, correspondant à deux échelles d'observation. La première, moléculaire, a pour but de renseigner les niveaux de concentration et les comportements des molécules d'intérêt dans les compartiments à l'étude : effluents d'entrée de station d'épuration, effluents traités de station d'épuration, eaux de rivière, sédiments et matières en suspension. La seconde approche est plus systémique : elle considère un procédé ou un hydrosystème dans sa globalité en utilisant les molécules comme des traceurs. Elle permet ainsi la comparaison des stations d'épuration à l'étude sous différentes conditions (chapitre 4.1), l'étude d'impact global de rejets urbains (chapitres 4.2 et 4.3) ou le suivi hydrodynamique des masses d'eau et la réactivité de l'estuaire (chapitre 4.3 et 4.4).

Le **premier chapitre** de ce manuscrit présente le cadre de cette étude, à savoir les problématiques liées à la contamination des milieux aquatiques par les médicaments et les filtres UV, des usages aux rejets. Après une restriction du cadre aux 53 médicaments et aux 6 filtres UV sélectionnés dans ces travaux, les propriétés physico-chimiques et l'occurrence des composés d'intérêt dans les eaux seront présentées. Le fonctionnement hydrosédimentaire de la Gironde fera également l'objet d'un point détaillé.

Les sites d'étude, les techniques d'échantillonnage et les méthodes analytiques sont détaillés dans le **second chapitre** de matériels et méthodes.

Le **troisième chapitre** présente la validation des outils analytiques utilisés au cours de ces travaux. Il est découpé en deux parties, la première examinant les aspects instrumentaux et ceux liés à la préparation des échantillons dans les matrices aqueuses et solides ; la seconde traitant de la calibration et de la validation des échantillonneurs passifs de type POCIS utilisés en vue d'un suivi intégratif continu de la Gironde.

Le **quatrième chapitre** concerne les résultats appliqués aux systèmes à l'étude, dans une logique des sources vers le milieu : les stations d'épuration de l'agglomération bordelaise (4.1), la Jalle de Blanquefort (4.2), l'estuaire de la Gironde (4.3) et le devenir des composés d'intérêt par une étude de dégradabilité *in-vitro* (4.4).

Chapitre 1 : Cadre de l'étude

Chapitre 1 : Cadre de l'étude

1	Médicaments et filtres UV : des micropolluants organiques traceurs de rejets urbains.....	27
2	Diversité et usage des médicaments	28
2.1	Un marché conséquent et une offre abondante.....	28
2.2	Cadre réglementaire.....	29
2.3	Transfert vers le milieu.....	30
2.3.1	De l'administration à l'excrétion	30
2.3.2	Des réseaux d'eaux usées au milieu.....	32
2.3.3	Sources secondaires et fabrication	32
2.4	Consommation	33
2.5	Les classes thérapeutiques.....	35
3	Cas des Filtres UV.....	38
4	Les molécules étudiées.....	39
4.1	Démarche de la sélection	39
4.2	Propriétés des analytes	41
4.2.1	Propriétés physico-chimiques des médicaments.....	41
4.2.2	Données de consommation et d'occurrence des médicaments.....	53
4.2.3	Données de métabolisme des médicaments	57
4.2.4	Propriétés physico-chimiques des filtres UV.....	61
4.2.5	Données de production et d'occurrence des filtres UV	61
5	Comportement des molécules d'intérêt en STEP	62
5.1	Généralités	62
5.1.1	Traitement primaire	62
5.1.2	Traitement secondaire par boues activées	62
5.1.3	Traitement secondaire par bioréacteurs à membranes (MBR)	63
5.1.4	Traitement secondaire par procédés à cultures fixées	64
5.2	Les apports du projet AMPERES.....	64
6	Comportement des molécules d'intérêt dans l'environnement.....	65

6.1	Transport, adsorption et dégradation.....	66
6.1.1	Transport	66
6.1.2	Adsorption	66
6.1.3	Biodégradation	67
6.1.4	Dégradation abiotique.....	67
6.2	Impact sur le biote.....	68
6.2.1	Bioaccumulation.....	68
6.2.2	Toxicité et écotoxicité	69
7	L'hydrosystème de la Gironde soumis aux rejets urbains.....	70
7.1	Morphologie	70
7.2	Bassin versant.....	71
7.3	Hydrologie de l'estuaire	72
7.4	Intrusion haline et circulation résiduelle.....	74
7.5	Processus sédimentaires	75
7.6	Descripteurs physico-chimiques.....	76
7.7	Apports anthropiques à la Garonne estuarienne.....	79
7.7.1	Matière organique.....	79
7.7.2	Contaminants métalliques.....	79
7.7.3	Contaminants organiques	80
7.8	Evolution du système estuarien Garonne-Dordogne-Gironde	80
8	Cadre scientifique : Le programme Etiage	80

1 Médicaments et filtres UV : des micropolluants organiques traceurs de rejets urbains

La présence des micropolluants organiques dans les écosystèmes aquatiques résulte d'apports associés à de multiples activités, notamment domestiques, agricoles ou industrielles. Les voies d'introduction au milieu aquatique de ces contaminants sont liées à leurs usages, avec en particulier les apports diffus par lessivage des sols ou par dépôts atmosphériques (Schwarzenbach *et al.*, 2006), les rejets directs des effluents industriels ou les rejets directs des effluents urbains. Ces derniers sont vecteurs des micropolluants à usage domestique (détergents, produits de soin, médicaments...) et des micropolluants collectés par les égouts (hydrocarbures issus des transports, pesticides issus des peintures antisalissures...) (Hollender *et al.*, 2008).

L'inventaire réalisé par Focazio *et al.* (2008) dans des eaux de rivières et des eaux souterraines aux Etats-Unis a mis en évidence la présence de contaminants appartenant à de multiples classes dans les masses d'eau, avec la détection de 63 molécules dans au moins un site (Figure 1). La contamination en médicaments et en produits cosmétiques au sens large (incluant les fragrances) est généralisée puisqu'ils font partie des molécules les plus détectées, dans plus de 30 % des sites.

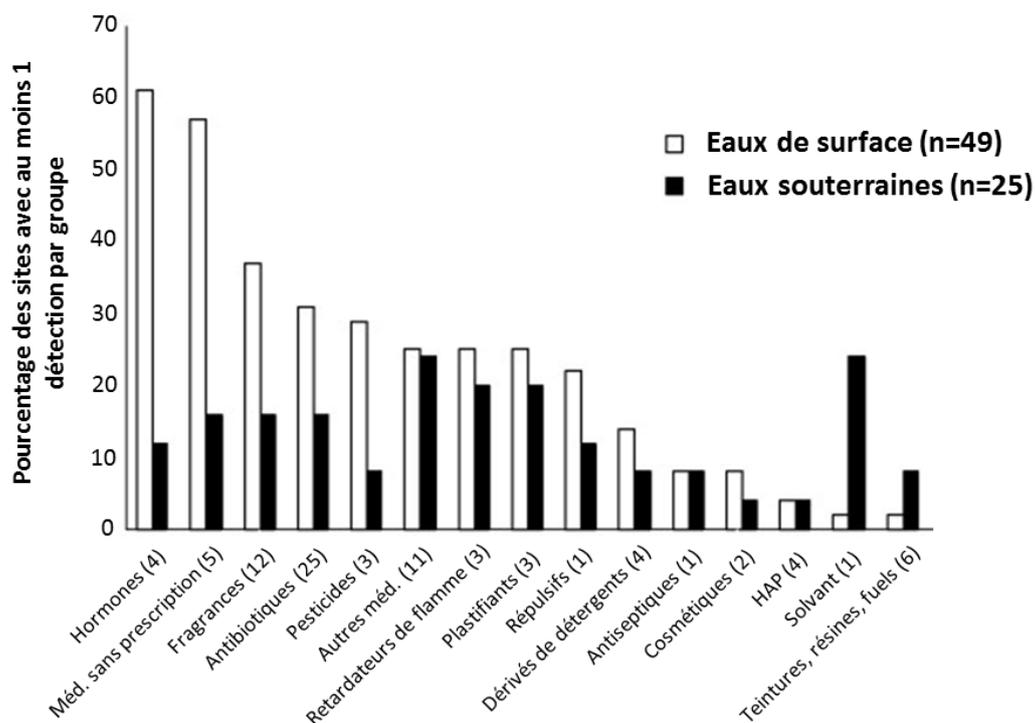


Figure 1. Occurrence de micropolluants organiques d'origine urbaine dans les masses d'eau étudiées par Focazio *et al.* (2008) aux Etats-Unis. Le nombre de molécules par classe est précisé entre parenthèses.

Si certaines classes de contaminants peuvent avoir des sources multiples comme les HAP (d'origine urbaine, industrielle ou naturelle ; Neff, 1979) ou les alkylphénols (d'origine urbaine, industrielle ou agricole ; Ying *et al.*, 2002), les médicaments et les produits cosmétiques, dont les filtres UV, sont principalement d'origine urbaine (Ashton *et al.*, 2004 ; Daughton et Ternes, 1999).

Ainsi, leur caractère ubiquiste et la particularité de leur source font de ces classes de composés des molécules-traceurs de rejets urbains idéales. Dans le cadre de ces travaux, visant à caractériser l'impact des apports des effluents de l'agglomération bordelaise sur la qualité des eaux de la Garonne, le choix s'est donc porté sur les médicaments et les filtres UV.

2 Diversité et usage des médicaments

2.1 Un marché conséquent et une offre abondante

Le marché mondial du médicament est évalué à environ 855 milliards de dollars de chiffre d'affaires en 2011 contre moins de 200 milliards de dollars en 1990 (LEEM, 2012). La France, avec 4,8 % de ce marché mondial (Tableau 1), génère un chiffre d'affaires résultant des ventes de médicaments estimé à 21,7 milliards d'euros dans les officines et à environ 5,9 milliards à l'hôpital en 2011 (ANSM, 2012a).

Tableau 1. Pourcentage de parts du marché mondial des 10 principaux pays en 2011. Population : données United Nations (2012).

Pays	% du marché mondial	Population millions d'hab.
Etats-Unis	37,7	310
Japon	11,7	127
Allemagne	5	82
France	4,8	63
Chine	4,7	1 341
Italie	3,3	61
Espagne	2,6	46
Canada	2,6	34
Brésil	2,6	195
Royaume-Uni	2,5	62

En termes de consommation en Europe, la France occupe la seconde place en volume et la première en valeur (Figure 2), cette différence s'expliquant par la faible proportion de prescriptions de médicaments génériques en France par rapport au reste de l'Europe (l'Assurance Maladie, 2011).

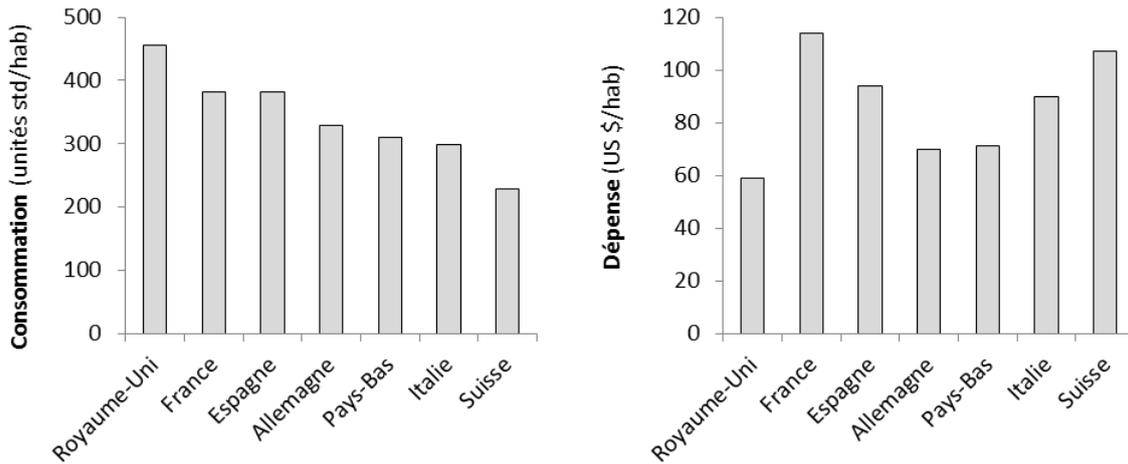


Figure 2. Nombre d'unités standards par habitant sur 8 grandes classes en 2009 et dépenses moyennes de médicaments par habitant sur 8 grandes classes en 2009 en euros (l'Assurance Maladie, 2011).

Ainsi, un français consomme en moyenne 48 boîtes de médicaments par an (ANSM, 2012a). L'offre est très diversifiée : 3 000 substances actives composent les 10 500 spécialités correspondant à 14 600 présentations effectivement commercialisées. On distingue les spécialités comme des compositions d'une ou plusieurs substances actives et les présentations comme différents conditionnements de ces spécialités. Cette offre abondante peut être vendue en officine ou en hôpitaux, pour respectivement 85 et 15 % des parts de marché, les marchés officinaux et hospitaliers différant tant par les formes galéniques (c'est-à-dire la forme sous laquelle principes actifs et excipients sont mis ensemble : comprimé, gélule, solution injectable, crème...) que par les classes consommées : la voie orale représente 80 % des conditionnements vendus en officine alors que la forme injectable représente 64 % des formes vendues en hôpital.

2.2 Cadre réglementaire

La régulation du médicament est basée sur la procédure d'autorisation de mise sur le marché (AMM), délivrée par l'agence européenne des médicaments (EMA) ou par l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) dans le cas d'une procédure nationale. Cet acte juridique, autorisant la commercialisation du médicament, vise à démontrer son efficacité et sa sûreté. La condition de délivrance de l'AMM est fondée sur le rapport bénéfice-risque, défini comme l'évaluation des effets thérapeutiques positifs du médicament au regard du risque pour la santé du patient ou la santé publique, qui excluait, dans un premier temps, le risque pour l'environnement (CGEDD, 2010). L'évaluation du risque environnemental est apparue en 2004 avec la directive européenne 2004/27, mais uniquement pour les demandes d'AMM postérieures à décembre 2006. Son application est limitée aux molécules pour lesquelles la concentration prévisionnelle dans l'environnement (PEC) est supérieure au seuil de 10 ng.L^{-1} , ce qui permet à la plupart des médicaments nouveaux de s'affranchir de l'identification et caractérisation des dangers, particulièrement l'établissement de leur concentration prévisionnelle sans effet pour l'environnement (PNEC). Compte tenu de la stabilité du marché du médicament et du faible renouvellement de la pharmacopée, il n'existe donc pas de connaissance disponible des effets

environnementaux de la plupart des médicaments par les procédures d'AMM (CGEDD, 2010). Dans ce contexte, le ministère de l'écologie a lancé le 30 mai 2011 un Plan National sur les Résidus de Médicaments dans l'eau (PNRM) ayant en particulier pour objectifs la mise en œuvre de campagnes de mesures, l'amélioration de la prise en compte de l'impact environnemental dans les dossiers d'AMM, la réduction à la source des rejets de médicaments et la structuration des actions de recherche dans ce domaine.

Le règlement européen REACH (enregistrement, évaluation et autorisation des produits chimiques) prévoit l'évaluation du risque environnemental pour les 30 000 produits chimiques utilisés en Europe à plus d'une tonne par an mais exclut de son champ les médicaments ("Enregistrement - ECHA,").

Concernant le milieu aquatique, la Directive Cadre sur l'Eau (DCE, directive européenne 2000/60/CE) fixe des objectifs pour la préservation et la restauration de l'état des eaux superficielles (eaux de surface intérieures, eaux souterraines, eaux estuariennes et eaux côtières) au plus tard en 2027. Des normes de qualité environnementale (NQE), concentrations maximales d'un polluant dans une eau de surface donnée, ont ainsi été définies (directive 2008/105/CE) pour une liste de 33 molécules prioritaires et 8 substances dangereuses incluant des HAP, des pesticides ou des métaux mais pas de médicaments ("Priority Substances and Certain Other Pollutants according to Annex II of Directive 2008/105/EC - Environment - European Commission,"). Cette liste, mise à jour tous les quatre ans, va être étendue à 12 molécules supplémentaires suite à la décision du Parlement Européen du 2 juillet 2013 tandis que 3 médicaments vont être inclus dans une liste de surveillance : le diclofénac, le 17- α -éthinyloestradiol et le 17- β -estradiol. Des NQE vont ainsi être définies pour ces molécules à moyen terme (position du Parlement Européen, référence EP-PE_TC1-COD(2011)0429).

2.3 Transfert vers le milieu

2.3.1 De l'administration à l'excrétion

Après administration par voie orale et avant d'atteindre son organe-cible, le médicament doit être résorbé, c'est-à-dire passer dans la circulation sanguine. La résorption s'effectue dans le tractus gastro-intestinal par diffusion au travers des membranes biologiques et selon une efficacité qualifiée par la biodisponibilité, exprimée en pourcentage (Vaubourdolle, 2007). La fraction non assimilée est éliminée dans les fèces tandis que la fraction résorbée est distribuée dans l'organisme. Dans le cas d'une prise par injection, 100 % de la dose passe dans la circulation sanguine.

Une fois dans l'organisme, les médicaments peuvent être métabolisés, ce terme faisant référence à la transformation, par une réaction enzymatique, des médicaments en un ou plusieurs autres composés actifs ou inactifs, appelés métabolites. La métabolisation, qui vise à augmenter le caractère hydrophile du médicament afin de faciliter son élimination (Celiz *et al.*, 2009), a principalement lieu dans le foie. Elle se découpe en 2 phases, la fonctionnalisation (phase 1 : addition d'un groupement fonctionnel réactif ou démasquage d'un groupement fonctionnel réactif) suivie de la conjugaison (phase 2 : addition d'un composé endogène polaire). A titre d'exemple, deux réactions de métabolisation de phase 1 sont données pour le clofibrate et l'ibuprofène, respectivement hydrolysé en acide clofibrique et hydroxylé en hydroxy-ibuprofène (Figure 3).

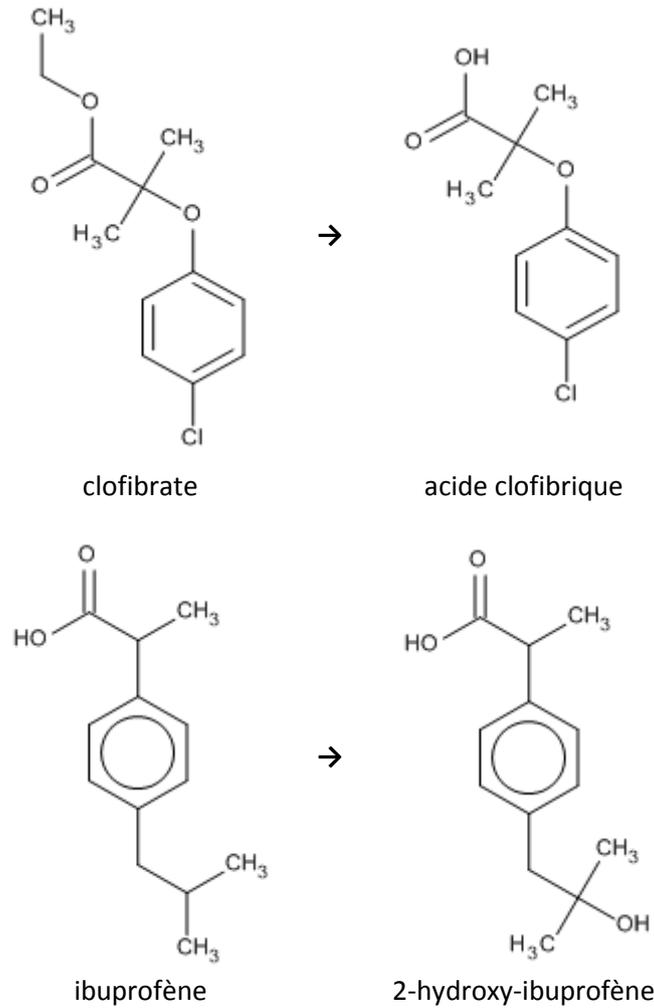


Figure 3. Exemples de réactions de métabolisation de phase 1.

Les groupes fonctionnels ajoutés peuvent être des groupements hydroxyle, carboxyle, amine ou thiol. La métabolisation de phase 2 est principalement une glucuroconjugaison (Figure 4), c'est-à-dire la fixation d'un acide glucuronique sur la fonction hydroxyle ou acide d'un composé, ou une sulfoconjugaison correspondant à la fixation d'un ion sulfate sur une fonction hydroxyle.

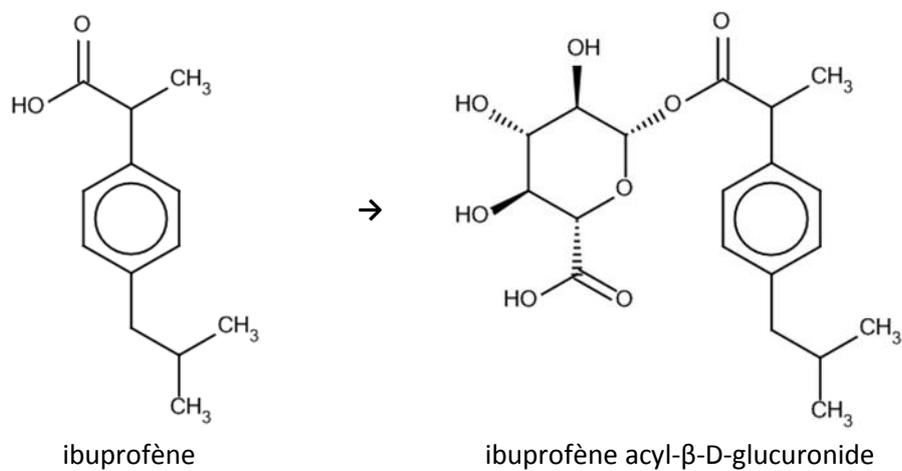


Figure 4. Exemple de réaction de métabolisation de phase 2 : glucuroconjugaison d'ibuprofène.

L'importance relative de ces étapes varie selon les molécules et les individus, un même principe actif pouvant être excrété sous forme inchangée et sous forme de multiples métabolites. Ainsi, l'indinavir est excrété par voie fécale et rénale, avec 10 % de la dose éliminée par voie rénale sous forme inchangée et le reste sous forme de 7 métabolites, dont un glucuro-conjugué (données Vidal, www.vidal.fr) ; l'ibuprofène et 9 de ses métabolites, dont certains glucuronidés, ont été également détectés dans l'urine (Plumb *et al.*, 2007). De ce fait, les 3 000 principes actifs autorisés à la vente en France peuvent être les composés parents de milliers d'autres molécules.

2.3.2 Des réseaux d'eaux usées au milieu

Après élimination, les résidus médicamenteux transitent par les réseaux d'eaux usées avant d'atteindre une station d'épuration (STEP). Le transport dans le réseau constitue une première altération de l'effluent puisque le contact entre les analytes et les matières en suspension (MES) est susceptible de favoriser la partition vers la phase particulaire dans le cas des molécules les plus hydrophobes (Baker et Kasprzyk-Hordern, 2011a). Par ailleurs, une déconjugaison spontanée des formes glucuro-conjuguées a été observée dans le cas d'hormones (Reddy *et al.*, 2005 ; D'Ascenzo *et al.*, 2003), les auteurs attribuant ce résultat à l'action de l'enzyme β -glucuronidase, produite en particulier par les bactéries fécales (*Escherichia coli*).

Le traitement des résidus médicamenteux en station d'épuration est abordé en section 5 de ce chapitre. Le traitement étant généralement incomplet, les stations d'épuration déversent un flux continu de résidus médicamenteux au milieu récepteur. D'autre part, lors d'événements pluvieux intenses, il arrive que les réseaux d'eaux usées soient saturés et rejettent, *via* les déversoirs d'orage, des eaux non traitées vectrices des résidus médicamenteux (Benotti et Brownawell, 2007 ; Del Río *et al.*, 2013).

2.3.3 Sources secondaires et fabrication

Les boues générées lors de l'assainissement des eaux usées sont autorisées comme fertilisants pour l'agriculture, après stabilisation et déshydratation (Arrêté du 08/01/98, 1998). Des teneurs limites existent pour les micropolluants métalliques et certains micropolluants organiques (HAP, PCB) mais les résidus médicamenteux ne sont pas concernés. La lixiviation des boues épandues peut entraîner un relargage de ces molécules dans le milieu aquatique (Brisolara et Qi, 2011).

D'autre part, les médicaments à usage vétérinaire, comme par exemple les cyclines, famille d'antibiotiques dérivés de la tétracycline, sont retrouvés dans les excréments du bétail (Capdeville, 2011) et sont susceptibles, après épandage, de rejoindre les eaux de surface (Boxall, 2010).

Les médicaments peuvent également atteindre l'environnement aquatique *via* les rejets des industries pharmaceutiques. Sanchez *et al.* (2011) ont ainsi montré l'existence de perturbations endocriniennes sur des poissons à l'aval du rejet d'une industrie pharmaceutique en France. En Inde, des concentrations allant jusqu'à 31 mg.L⁻¹ (ciprofloxacine) ont été mesurées dans l'effluent d'une STEP collectant les eaux usées de 90 industries pharmaceutiques, les teneurs dépassant les seuils de toxicité de certaines bactéries de plus d'un facteur 1000 (Larsson *et al.*, 2007).

2.4 Consommation

L'Agence Nationale de la Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) publie tous les ans un bilan de l'analyse des ventes de médicaments pour l'année passée. Les données de consommation disponibles sont synthétisées par classe ATC et les classements des principes actifs sont donnés en valeur ou en unités vendues et non en masse de substance active. Le syndicat des Entreprises du Médicament (LEEM) publie également des données de consommation en quantité et en valeur par classe de médicaments. L'Assurance Maladie diffuse régulièrement des informations détaillées sur les présentations remboursées sur les dernières années, en particulier le dénombrement des boîtes remboursées (base de données MEDIC'AM ; "ameli.fr - Médicament,").

Dans le cas de médicaments à forte valeur ajoutée comme les antinéoplasiques et les antirétroviraux, il n'est pas envisageable d'extrapoler ces données à une quantité en masse de molécules consommées. De la même façon, les tailles de conditionnements des présentations destinées au marché hospitalier étant beaucoup plus importantes que celles destinées au marché officinal, le raisonnement en unités vendues entraîne une sous-estimation des apports hospitaliers (ANSM, 2012a). Enfin, les dosages des principes actifs peuvent varier d'une molécule à l'autre du dixième de milligramme par comprimé (alprazolam) à un gramme (paracétamol), ce qui rend impossible la comparaison des apports relatifs de chaque molécule en raisonnant en unité vendue.

La démarche adoptée dans ces travaux se base sur la masse de principe actif consommé. Les données utilisées sont celles de l'Assurance Maladie concernant les médicaments remboursés. On note que les spécialités remboursables obligatoirement prescrites représentent en quantité vendue une proportion de 52,1 % (ANSM, 2012a), les calculs suivants présenteront donc un biais sur les médicaments disponibles sans ordonnance. A titre d'exemple, une sélection des cases utilisées pour le calcul de consommation est extraite de la base de données MEDIC'AM (Tableau 2).

Tableau 2. Exemple de renseignements fournis par la base de donnée MEDIC'AM 2008-2010 (extrait). La classe ATC est décrite en section 2.5 de ce chapitre.

NOM COURT	Classe ATC	Nombre de boites remboursées		
		2008	2009	2010
DILATRANE LP 200MG GELULE 30	THEOPHYLLINE	23 354	22 750	20 263
DILATRANE LP 100MG GELULE 30	THEOPHYLLINE	5 569	5 726	5 093
DILATRANE 50MG/5ML SIROP 1/200 ML	THEOPHYLLINE	5 083	5 243	4 907
LAROXYL ROCHE 50MG/2ML SOL INJ 12/2 ML	AMITRIPTYLINE	3 997	4 265	3 648
LAROXYL ROCHE 25MG CPR 60	AMITRIPTYLINE	474 122	466 406	466 980

La base de donnée a été retravaillée pour en extraire, selon la forme galénique, le nombre de prises unitaires par boîte ainsi que le dosage de chaque principe actif par prise (comprimé, gélule, volume de sirop...) pour les 13 952 présentations recensées. Pour chaque ligne, le produit du dosage par le nombre de prises par le nombre de boîtes remboursées donne la masse de principe actif consommé par présentation. Le classement des 50 molécules les plus consommées en France en 2008, 2009 et 2010 est donné Tableau 3.

Tableau 3. Classement des 50 principes actifs les plus consommés en France (calculé à partir de la base de données MEDIC'AM). Classement en fonction de l'année 2010.

	Principe actif	Classe thérapeutique	Consommation (kg)		
			2008	2009	2010
1	paracétamol	analgésique	2136935	2263350	2253197
2	metformine	antidiabétique	717081	773342	845470
3	amoxicilline	antibiotique	205059	225337	225129
4	chlorure de potassium	supplément minéral	168941	171360	174240
5	sulfate de chondroïtine	antiarthrosique	163982	175934	167043
6	ibuprofène	anti-inflammatoire	134259	147456	133313
7	acide acétylsalicylique	anti-inflammatoire	113535	115003	105996
8	acide valproïque	Antiépileptique	78930	77875	78482
9	strontium ranélate	régulateur du calcium osseux	43058	53019	65258
10	irbesartan	antihypertenseur	57348	58447	60533
11	oxoglurate d'ornithine	adjuvant de la nutrition	60789	63555	59456
12	acétylleucine	antivertigineux	43875	46539	49438
13	magnésium	supplément minéral	30099	50056	47918
14	calcium	supplément minéral	46848	45239	45701
15	mesalazine	anti-inflammatoire	43458	43890	45460
16	piracetam	psychostimulant	56900	51083	44465
17	tramadol	antalgique	35592	39511	44017
18	fénofibrate	hypolipédiant	46418	44840	43355
19	fractions insaponifiables d'huile de soja et d'avocat	antiarthrosique	39749	41847	39340
20	colestyramine	hypolipédiant	42148	38479	38515
21	allopurinol	antigoutteux	37212	37504	37703
22	valsartan	antihypertenseur	34053	36188	37388
23	méprobamate	anxiolytique	37684	37461	35937
24	pristinamycine	antibiotique	32311	34638	35894
25	gabapentine	antiépileptique	37041	35053	34652
26	trimébutine	antispasmodique	31192	31196	30193
27	phloroglucinol	antispasmodique	26017	26827	28543
28	kétoprofène	anti-inflammatoire	33794	34026	26900
29	acébutolol	β-bloquant	28475	27626	26810
30	levetiracetam	antiépileptique	17416	21724	25944
31	valaciclovir	antiviral	20535	21685	23159
32	méthocarbamol	myorelaxant	18803	20912	22758
33	follitropine beta	hormone folliculostimulante	27826	25969	22513
34	naproxène	anti-inflammatoire	22579	21840	22070
35	diclofénac	anti-inflammatoire	17597	18938	21744
36	acamprosate	traitement de la dépendance à l'alcool	20862	20628	21137
37	carbamazépine	antiépileptique	20911	20205	19978
38	clopidogrel	antiagrégant plaquettaire	18388	19056	19780
39	tocophérol	vitamine	21263	20147	19673
40	dextropropoxyphène	analgésique	33874	26487	19029
41	levodopa	traitement de la maladie de Parkinson	17888	18319	18272
42	verapamil	inhibiteur calcique	18276	18043	17876
43	serenoa repens	traitement de l'adénome de la prostate	15080	15836	17685
44	naftidrofuryl	vasodilatateur	21825	19755	17447

	Principe actif	Classe thérapeutique	Consommation (kg)		
			2008	2009	2010
45	valpromide	antiépileptique	16775	16661	16863
46	diltiazem	inhibiteur calcique	18131	17120	16424
47	furosémide	diurétique	15110	15447	16175
48	trimétazidine	antiangoreux	15857	15713	15751
49	amiodarone	antiarythmique	14999	15066	15325
50	pregabaline	antiépileptique	10649	12725	14805

Ce classement illustre bien la diversité d'usage des médicaments puisque 31 classes thérapeutiques différentes sont recensées pour 50 molécules. Les médicaments du traitement de la douleur (anti-inflammatoires, antalgiques, analgésiques) sont très représentés avec 9 molécules, les antiépileptiques, avec 6 molécules, sont la deuxième famille la plus consommée en France. L'examen par année fait apparaître peu de différences majeures, il faut noter toutefois l'arrêt de commercialisation de certaines molécules postérieur à ce classement : dextropropoxyphène en 2011 et méprobamate en 2012. Par ailleurs, le déremboursement de nombreux médicaments depuis 2010 (ANSM, 2012a) peut modifier ce classement pour les années ultérieures.

2.5 Les classes thérapeutiques

Les méthodes de classement des médicaments sont multiples et peuvent prendre en compte leur mode d'action, leur indication thérapeutique ou leur structure chimique. Dans la classification adoptée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), dite ATC pour Anatomique, Thérapeutique, Chimique, les molécules pharmaceutiques sont réparties selon l'organe sur lequel elles agissent et leurs caractéristiques thérapeutiques et chimiques. Ce classement, lourd mais exhaustif, n'est pas adapté à la présentation générale de ces travaux. On a choisi ici un classement des molécules par classe thérapeutique, c'est-à-dire l'ensemble des médicaments à même visée thérapeutique. Les généralités et modes d'action sont issus du dictionnaire médical Vidal, les données de consommation présentées sont issues du retraitement de la base de données MEDIC'AM, détaillé en section 2.4.

a) Antirétroviraux

Les antirétroviraux représentent une famille de médicaments indiqués dans le traitement des infections virales à rétrovirus, principalement le VIH (virus de l'immunodéficience humaine). Leur mode d'action est basé sur l'inhibition d'une ou plusieurs étapes du cycle de répllication du virus. On compte par exemple dans cette famille l'oseltamivir (principe actif du Tamiflu contre la grippe H1N1), l'acyclovir (indiqué contre l'herpès) ou la zidovudine, la lamivudine et l'abacavir, souvent associés en trithérapie contre le VIH.

b) Psychotropes

Les médicaments psychotropes regroupent les molécules agissant sur le système nerveux central et font l'objet de multiples classifications. Parmi eux, les psycholeptiques sont des substances qui ont la capacité de faire diminuer l'activité psychique : neuroleptiques, sédatifs, anxiolytiques et hypnotiques en font partie, ces 2 dernières classes étant principalement représentées par les

benzodiazépines. Cette famille de 22 molécules présente une consommation élevée puisqu'on estime qu'un français sur 5 en consomme au moins une chaque année : plus de 25 millions de personnes ont donc été exposées à une benzodiazépine entre mi-2006 et mi-2011 (AFSSAPS, 2012). Tétrazépam, oxazépam et bromazépam sont les trois benzodiazépines les plus consommées en France.

On compte aussi parmi les psychotropes les antidépresseurs, médicaments destinés à corriger et relever l'humeur dépressive. Les antidépresseurs tricycliques (amitriptyline, imipramine...), les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (fluoxétine, sertraline...) et les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (venlafaxine, duloxétine...) font partie des principales sous-familles d'antidépresseurs.

c) Analgésiques

Les analgésiques sont constitués d'une substance active qui prévient ou diminue la sensation de douleur. La plupart des analgésiques sont des anti-inflammatoires non stéroïdiens qui ont la propriété de diminuer l'inflammation. On les qualifie de non stéroïdiens pour les distinguer des glucocorticoïdes comme par exemple la dexaméthasone.

Les analgésiques représentent la classe médicamenteuse la plus consommée en France : le paracétamol est le principe actif le plus consommé, l'ibuprofène et l'aspirine étant 6^{ème} et 7^{ème}, respectivement.

d) Hypolipémiants

Les hypolipémiants ou hypocholestérolémiants permettent de diminuer le taux de lipides dans le sang. Ils se divisent en 2 familles principales : les fibrates, permettant de diminuer la synthèse ou d'augmenter la dégradation des lipoprotéines, et les statines, permettant de réduire la fabrication endogène du taux de cholestérol. Le marché est dominé par le fénofibrate, le bézafibrate, l'atorvastatine et la pravastatine.

e) β -bloquants

Ces médicaments sont utilisés pour traiter l'hypertension, la tachycardie, l'insuffisance cardiaque chronique, la migraine et le glaucome. Ils permettent notamment de ralentir le rythme cardiaque, diminuer la pression artérielle et la pression intraoculaire. Acébutolol, propranolol, sotalol, aténolol et céliprolol font partie des 100 molécules les plus consommées en France.

f) Antiépileptiques

Les antiépileptiques ou anticonvulsivants sont utilisés dans la prévention de l'épilepsie. Leur utilisation est symptomatique et non curative, ce qui signifie que l'arrêt du traitement entraîne la reprise des crises. Ce sont donc des médicaments à prise continue chez les épileptiques. Les antiépileptiques acide valproïque, gabapentine, carbamazépine, levetiracetam, prégabaline et oxcarbazépine figurent tous parmi les 100 médicaments les plus consommés en France en 2010. La carbamazépine est également utilisée comme régulateur de l'humeur ainsi que dans le traitement des douleurs neuropathiques, tout comme la gabapentine.

g) Antinéoplasiques

Ces molécules, également appelées anticancéreux, ont pour objectif de détruire de façon sélective les cellules malignes issues de la tumeur d'origine et sont donc cytotoxiques par nature. Leurs modes d'action sont très variés mais reposent sur l'altération de l'ADN. Bien qu'ils ne figurent pas en tête des classements de consommation de médicaments, les antinéoplasiques constituent le premier poste de dépenses de médicaments à l'hôpital, cette classe ayant bénéficié au cours des dix dernières années d'un grand nombre d'innovations thérapeutiques, souvent onéreuses (ANSM, 2012a).

On peut citer le tamoxifène, le cyclophosphamide ou le 5-fluorouracile parmi les antinéoplasiques les plus vendus en 2010.

h) Antibiotiques

Les antibiotiques, destinés à détruire ou bloquer la croissance des bactéries sont une grande famille de 84 molécules autorisées à la vente en France en 2010 (ANSM, 2012b) et classées en multiples sous-familles selon leur mode d'action. La préoccupation majeure liée aux antibiotiques est le développement de la résistance bactérienne, consécutive à la consommation excessive qui en est faite (ANSM, 2012b). L'amoxicilline, antibiotique de la famille des β -lactamines, est la 3^{ème} molécule la plus vendue en France en 2010.

i) Agents de contraste

Les agents de contraste sont les molécules utilisées en imagerie médicale. Il s'agit de molécules iodées pour l'imagerie par rayons X et de complexes de gadolinium en imagerie par résonance magnétique. Ces molécules sont conçues pour ne pas être métabolisées et sont donc excrétées inchangées en grande quantité (Kormos *et al.*, 2011).

j) Bronchodilatateurs

Les bronchodilatateurs sont utilisés dans le traitement de l'asthme, des pneumonies et des bronchites. On y trouve essentiellement les bronchodilatateurs β -2 stimulants utilisés dans le traitement et la prévention de la bronchoconstriction (salbutamol, terbutaline) mais également la théophylline ou des corticostéroïdes. La prise de ces traitements se fait principalement par inhalation.

k) Autres classes

Les quelques classes détaillées ici ne sont pas exhaustives et on peut encore citer les antihistaminiques, destinés en particulier au traitement des allergies (cétirizine, loratadine...), les antidiabétiques (metformine, acarbose...), les antihypertenseurs contre l'hypertension artérielle (losartan, captopril...), les diurétiques (furosémide, hydrochlorothiazide...), les antiagrégants plaquettaires (clopidogrel, ticlopidine...), les antiarythmiques (disopyramide, flecaïnide...) *etc.*

3 Cas des Filtres UV

Selon la directive 76/768/CEE sur les cosmétiques, un filtre UV se définit comme « une substance qui, contenue dans des produits cosmétiques de protection solaire, est destinée spécifiquement à filtrer certaines radiations pour protéger la peau contre certains effets nocifs de ces radiations ». A ce titre, 27 molécules sont autorisées en cosmétique dans l'Union Européenne, dont 26 sont des molécules organiques (Tableau 4). Les filtres UV entrent dans la composition d'une grande variété de cosmétiques (produits de soin de la peau et des cheveux, lotions, baumes à lèvres, shampooings, laques, crèmes et parfums ; Rodil et Moeder, 2008a) afin de protéger la peau et les cheveux ainsi que pour assurer la stabilité des formulations (Díaz-Cruz et Barceló, 2009). Ces composés sont également incorporés dans divers matériaux (plastiques, peintures, textiles ; Kunisue *et al.*, 2010 ; Kameda *et al.*, 2011) ainsi que dans les emballages alimentaires (Moreta et Tena, 2011). Dans les crèmes solaires la concentration maximale autorisée en filtres UV varie, selon les molécules, entre 0,5 et 15 %.

Tableau 4. Liste des filtres UV organiques autorisés en Union Européenne et tonnage déclaré (REACH). Source : bases de données européennes CosIng et ECHA.

Familles et molécules	N° CAS	Proportion maximale autorisée	Tonnage t.an ⁻¹
Benzophénones			
Oxybenzone	131-57-7	10	10-100
Sulisobenzone	4065-45-6	5	100-1000
Dérivés de l'acide p-aminobenzoïque			
Acide octyl diméthyl p-aminobenzoïque	21245-02-3	8	-
PEG-25 PABA	116242-27-4	10	-
Salicylates			
Homosalate	118-56-9	10	100-1000
2-Ethylhexyl salicylate	118-60-5	5	100-1000
Cinnamates			
Ethylhexyl méthoxycinnamate	5466-77-3	10	1000-10000
Isoamyl p-Méthoxycinnamate	71617-10-2	10	100-1000
Dérivés du camphre			
4-Méthylbenzylidène camphre	36861-47-9	4	-
3-Benzylidène camphre	15087-24-8	2	-
Méthosulfate camphre de benzalkonium	52793-97-2	6	-
Acide benzylidène camphre sulfonique	56039-58-8	6	-
Polyacrylamidométhyl benzylidène camphre	113783-61-2	6	-
Ecamsule	92761-26-7	10	-
Triazines			
Octyl Triazone	88122-99-0	5	10-100
Iscotrizinol	154702-15-5	10	100-1000
Bemotrizinol	187393-00-6	10	1-10
Benzotriazoles			
Drométrizole Trisiloxane	155633-54-8	15	-
Bisoctrizole	103597-45-1	10	1-10
Dérivés de benzimidazoles			
Phénylbenzimidazole	27503-81-7	8	100-1000
Bisdisulizole disodium	180898-37-7	10	10-100
Dérivés de dybenzoyl méthane			
Avobenzone	70356-09-1	5	1000-10000
Diéthylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate	302776-68-7	10	-

Familles et molécules	N° CAS	Proportion maximale autorisée	Tonnage t.an ⁻¹
Autres			
Octocrylène	6197-30-4	10	1000-10000
Diméthycodithiethylbenzalmalonate	207574-74-1	10	-

En termes de propriétés physicochimiques, les filtres UV comportent un ou plusieurs noyaux aromatiques, parfois conjugués avec des doubles liaisons carbone-carbone et des groupements carbonyle. La délocalisation des électrons par conjugaison est à l'origine de leur propriétés d'absorption des photons de longueur d'onde comprise entre 280 et 315 nm (UV-B) et 315 et 400 nm (UV-A). En effet, lorsque la molécule reçoit une radiation UV, elle passe dans un état excité puis retourne dans son état fondamental en dissipant l'énergie par des vibrations et/ou en réémettant une radiation moins dangereuse pour la peau (infrarouge par exemple). Par ailleurs, les filtres UV ont un fort caractère lipophile, avec des coefficients de partage octanol-eau ($\log K_{ow}$) compris entre 3 et 8.

Les filtres UV sont dédiés à l'usage externe, la pénétration des filtres UV à travers la peau étant faible, estimée entre 0,1 et 4 % (Giokas *et al.*, 2007). Ils peuvent être directement apportés au milieu aquatique lors des activités récréatives de baignade mais l'apport principal est indirect, *via* les eaux usées, suite aux douches et aux lessives (Plagellat *et al.*, 2006).

Les filtres UV ont ainsi été détectés dans les eaux de surface (lacs, rivières), l'eau de mer (Giokas *et al.*, 2007), dans les eaux usées (Balmer *et al.*, 2005 ; Jeon *et al.*, 2006 ; Kupper *et al.*, 2006 ; Liu *et al.*, 2012), l'eau potable, les sols, les boues (Plagellat *et al.*, 2006) et le biote (Balmer *et al.*, 2005 ; Zenker *et al.*, 2008). Par ailleurs, Schlumpf *et al.* (2010) ont trouvé des résidus d'un grand nombre de filtres UV dans 85 % des échantillons de lait maternel d'origine humaine, à des concentrations équivalentes à celles des PCB. Les filtres UV oxybenzone, EHMC et 4-MBC ont également été trouvés dans le plasma et l'urine d'origine humaine (Janjua *et al.*, 2008).

4 Les molécules étudiées

4.1 Démarche de la sélection

La sélection des médicaments repose sur des critères multiples, de consommation, d'occurrence, de persistance et de manque de données dans la littérature. Il ne s'agit pas d'une liste de priorisation comme celle proposée par Besse et Garric (2007) mais d'une liste exploratoire ayant pour but de couvrir de multiples classes thérapeutiques incluant à la fois des traceurs ubiquistes et des molécules à faible occurrence bibliographique.

Sur les 3000 substances actives commercialisées, à peine plus de 200 ont fait l'objet d'études environnementales (Hughes *et al.*, 2013). Parmi ces 200 molécules, les analgésiques et les antibiotiques sont les classes thérapeutiques les plus étudiées, la carbamazépine étant la molécule la plus étudiée. Le choix s'est ici porté sur l'inclusion dans la liste de quelques molécules très documentées, afin de bénéficier de points de comparaison bibliographiques : 19 molécules retenues font partie des 61 analytes les plus étudiés (Tableau 5 ; Hughes *et al.*, 2013), principalement les

analgésiques et les β -bloquants. Les antibiotiques n'ont pas été retenus puisqu'ils sont déjà très étudiés et font l'objet d'un protocole spécifique de 52 composés en usage au laboratoire (Capdeville, 2011).

Tableau 5. Liste des 61 molécules les plus étudiées d'après Hughes *et al.* (2013). Les molécules retenues dans ces travaux sont indiquées par une case grisée.

Molécule	Famille	Molécule	Famille
amoxicilline	antibiotique	indométacine	analgésique
amphétamine	drogue illicite	kétoprofène	analgésique
aspirine	analgésique	lincomycine	antibiotique
aténolol	β -bloquant	acide méfénamique	analgésique
atorvastatine	hypolipidémiant	métoprolol	β -bloquant
azithromycine	antibiotique	morphine	analgésique
benzoylecgonine	analgésique	naproxène	analgésique
bézafibrate	hypolipidémiant	norfloxacine	antibiotique
carbamazépine	antiépileptique	ofloxacine	antibiotique
chlortétracycline	antibiotique	oxytétracycline	antibiotique
cimétidine	antihistaminique	paracétamol	analgésique
ciprofloxacine	antibiotique	pentoxifylline	vasodilatateur
citalopram	antidépresseur	primidone	antiépileptique
clarithromycine	antibiotique	propranolol	β -bloquant
clindamycine	antibiotique	propylphénazone	analgésique
acide clofibrrique	hypolipidémiant	ranitidine	antihistaminique
cocaïne	drogue illicite	roxithromycine	antibiotique
codéine	analgésique	salbutamol	bronchodilatateur
diazépam	psycholeptique	sotalol	β -bloquant
diclofénac	analgésique	sulfachloropyridazine	antibiotique
diltiazem	inhibiteur calcique	sulfadiazine	antibiotique
diphenhydramine	antihistaminique	sulfadiméthoxine	antibiotique
doxycycline	antibiotique	sulfaméthazine	antibiotique
enalapril	antihypertenseur	sulfaméthoxazole	antibiotique
enrofloxacine	antibiotique	sulfapyridine	antibiotique
érythromycine	antibiotique	sulfathiazole	antibiotique
fluoxétine	antidépresseur	tétracycline	antibiotique
furosémide	diurétique	tramadol	analgésique
gabapentine	antiépileptique	triméthoprim	antibiotique
gemfibrozil	hypolipidémiant	tylosine	antibiotique
ibuprofène	analgésique		

A l'inverse, le manque de données bibliographiques est un motif de sélection dans le cas des 8 antirétroviraux sélectionnés (abacavir, indinavir, lamivudine, nelfinavir, névirapine, ritonavir, saquinavir et zidovudine) et de l'antihypertenseur losartan, de l'inhibiteur de la PDE-5 sildénafil, de l'antiagrégant plaquettaire clopidogrel et de l'antiarythmique disopyramide.

L'un des objectifs de ces travaux est également de bénéficier d'une méthode dite multi-résidus, permettant l'analyse simultanée d'un grand nombre d'analytes appartenant à diverses classes thérapeutiques, donc aux propriétés physico-chimiques variées. Les molécules analytiquement trop complexes comme l'aspirine, labile et hydrophile ($\log D = -2$ à pH 7) ou incompatibles avec le protocole sélectionné (*cf.* chapitre 2, section 3) comme l'oméprazole, nécessitant une extraction à pH 7 (Gracia-Lor *et al.*, 2010), ne peuvent donc pas être retenues ici.

Les 53 médicaments retenus, qu'on appellera analytes dans la suite de ces travaux, sont donnés dans le Tableau 6.

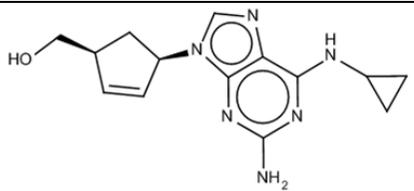
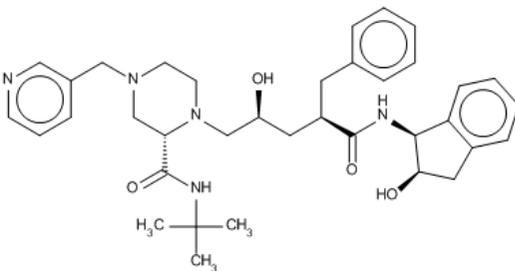
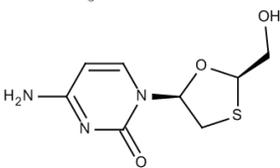
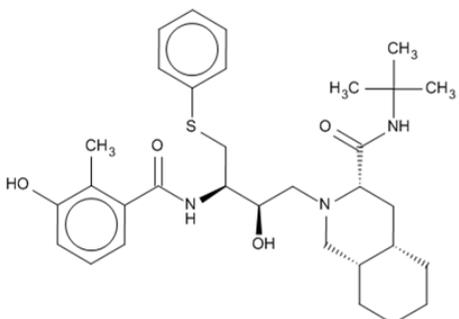
Dans le cas des filtres UV, le nombre d'études publiées (donné par la suite dans le Tableau 10) est globalement plus faible que pour les médicaments et le choix s'est principalement basé sur les molécules les plus documentées dans ces études.

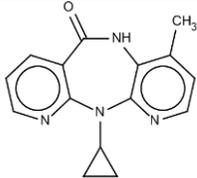
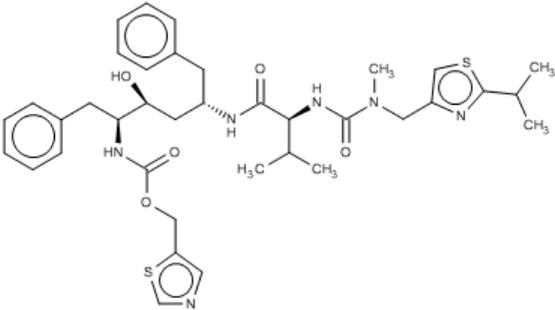
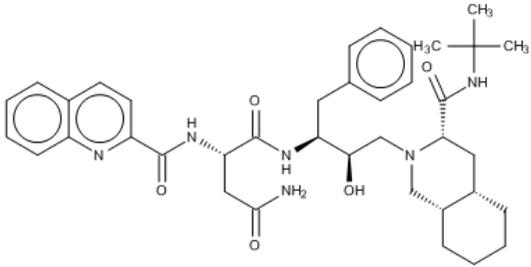
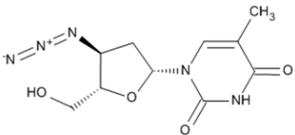
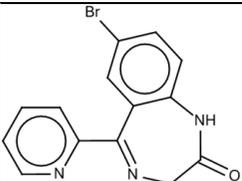
4.2 Propriétés des analytes

4.2.1 Propriétés physico-chimiques des médicaments

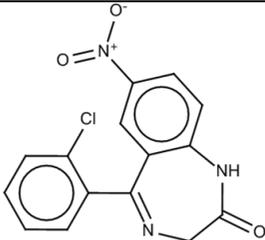
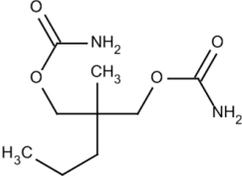
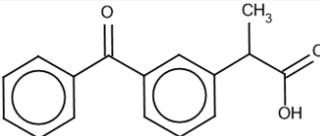
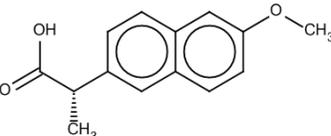
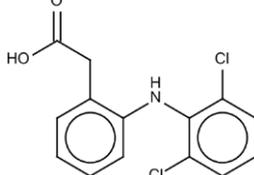
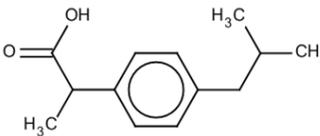
Le Tableau 6 donne les propriétés physico-chimiques des médicaments sélectionnés. Le coefficient de partage octanol-eau ($\log K_{ow}$) varie de -1,1 (lamivudine) à 5,2 (ritonavir) avec une valeur médiane de 2,5. Leur masse molaire est comprise entre $151,16 \text{ g.mol}^{-1}$ (paracétamol) et $720,94 \text{ g.mol}^{-1}$ (ritonavir). De nombreux médicaments possèdent des fonctions acides ou basiques et sont ionisés au pH des eaux naturelles (≈ 7). Le coefficient de partage octanol-eau n'est pas alors un bon descripteur de l'hydrophilie des molécules et il convient d'utiliser le coefficient de partage octanol-eau apparent ($\log D$), fonction du pH (Fatta-Kassinos *et al.*, 2011). Le $\log D$ médian à pH 7 est ainsi de 0,97, indiquant une hydrophilie marquée.

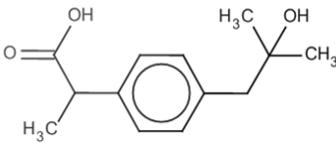
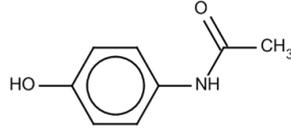
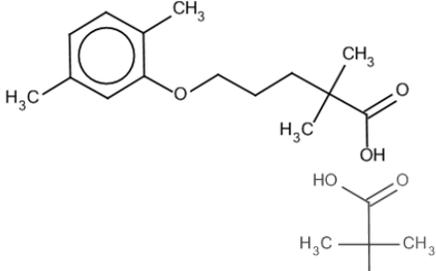
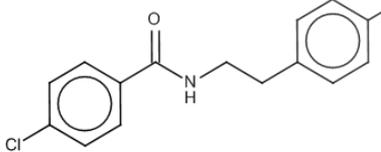
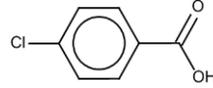
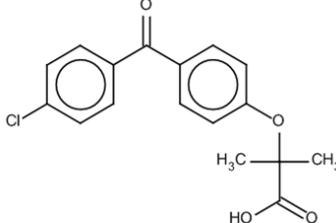
Tableau 6. Structure, n° CAS et propriétés physico-chimiques des médicaments sélectionnés. Propriétés physico-chimiques : www.chemicalize.org (ChemAxon). AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien, ATC : Antidépresseur TriCyclique, ISRS : Inhibiteur Sélectif de la Recapture de la Sérotonine.

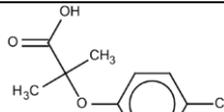
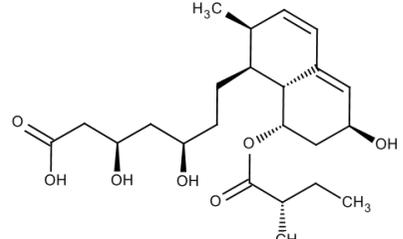
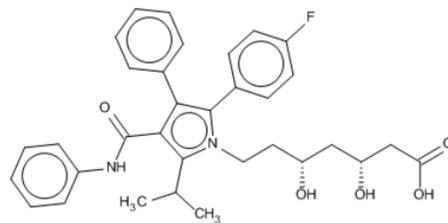
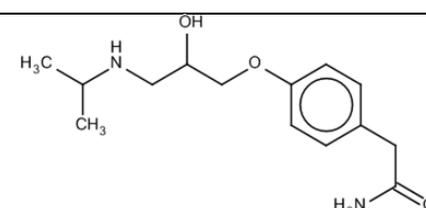
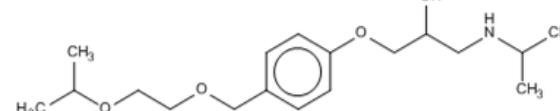
Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à ph 2	log D à ph 7
Antirétroviraux							
	abacavir		136470-78-5	286,33	0,39	-1,58	0,36
	indinavir		150378-17-9	613,79	2,81	-1,56	2,29
	lamivudine		134678-17-4	229,26	-1,1	-1,1	-1,1
	nelfinavir		159989-64-7	567,78	4,72	1,46	3,73

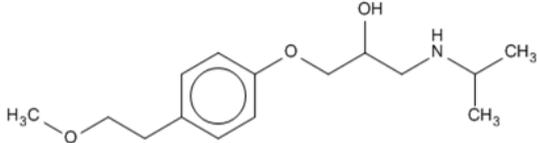
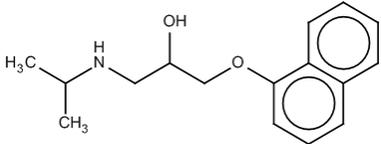
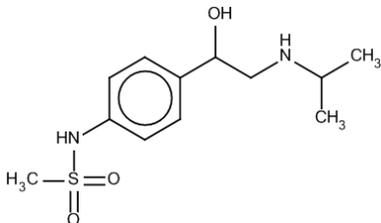
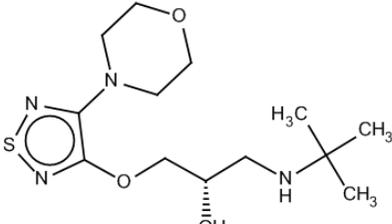
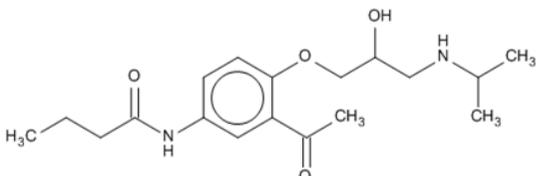
Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à ph 2	log D à ph 7
	névirapine		129618-40-2	266,30	2,49	0,11	2,48
	ritonavir		155213-67-5	720,94	5,22	4,49	5,22
	saquinavir		127779-20-8	670,84	2,58	-0,36	1,67
	zidovudine		30516-87-1	267,24	-0,3	-0,41	-0,41
Psycholeptiques							
Benzodiazépine	bromazépam		1812-30-2	316,15	2,54	1,85	2,54

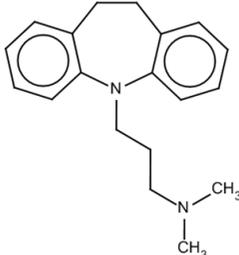
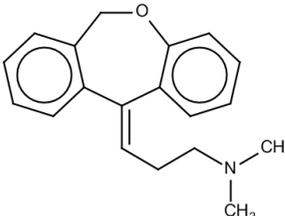
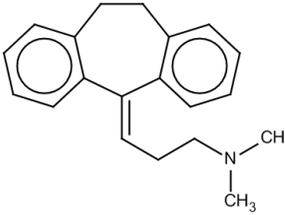
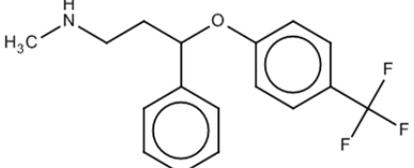
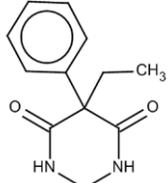
Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à ph 2	log D à ph 7
Benzodiazépine	nordiazépam		1088-11-5	270,71	1,32	2,31	3,21
Benzodiazépine	alprazolam		28981-97-7	308,77	2,37	-0,79	2,37
Benzodiazépine	diazépam		439-14-5	284,74	3,08	2,11	3,08
Benzodiazépine	oxazépam		35295-88-6	286,71	2,92	2,92	2,92
Benzodiazépine	lorazépam		846-49-1	321,16	3,53	3,53	3,53

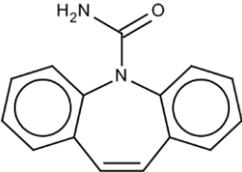
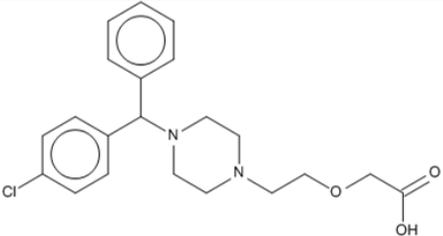
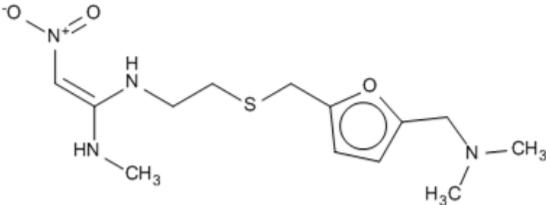
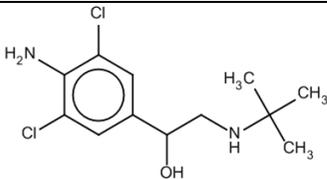
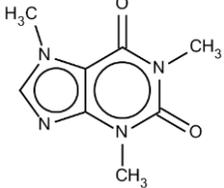
Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à pH 2	log D à pH 7
Benzodiazépine	clonazépan		106955-87-7	315,71	3,15	2,92	3,15
Carbamate	méprobamate		57-53-4	218,25	0,93	0,93	0,93
Analgésiques							
AINS	kétoprofène		172964-50-0	254,28	3,61	3,61	0,64
AINS	naproxène		23981-80-8	230,26	2,99	2,98	0,25
AINS	diclofénac		15307-86-5	296,15	4,26	4,25	1,37
AINS	ibuprofène		58560-75-1	206,28	3,84	3,84	1,71

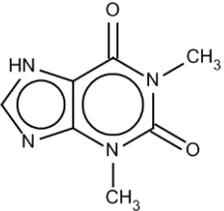
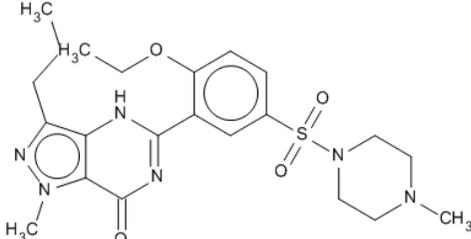
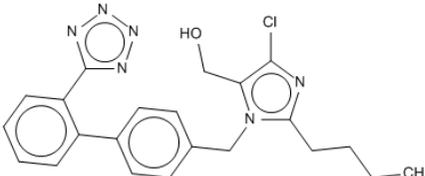
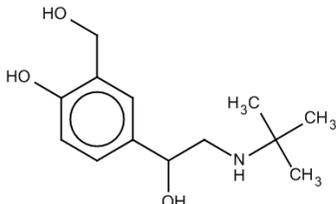
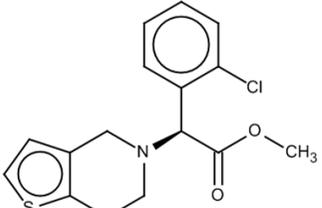
Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à ph 2	log D à ph 7
AINS	2-hydroxy- ibuprofène		51146-55-5	222,28	2,37	2,37	0,03
Antalgique	paracétamol		8055-08-1	151,16	0,91	0,91	0,91
Hypolipémiants							
Fibrate	gemfibrozil		25812-30-0	250,33	4,39	4,39	1,85
Fibrate	bézafibrate		41859-67-0	361,82	3,99	3,98	0,97
Fibrate	acide 4- chlorobenzoïque		74-11-3	156,57	2,23	2,23	-0,6
Fibrate	acide fénofibrique		42017-89-0	318,75	4,36	4,33	0,98

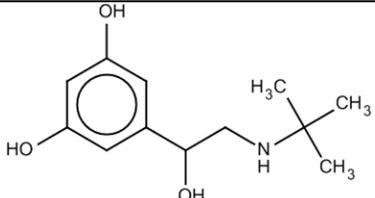
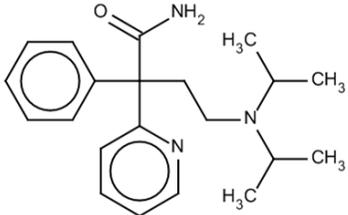
Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à ph 2	log D à ph 7
Fibrate	acide clofibrrique		882-09-7	214,65	2,9	2,88	-0,38
Statine	pravastatine		81093-37-0	424,53	1,65	1,64	-1,07
Statine	atorvastatine		134523-00-5	558,64	5,39	5,39	2,77
β-bloquants							
	aténolol		60966-51-0	266,34	0,43	-2,82	-2,14
	bisoprolol		66722-44-9	325,443	2,2	-1,05	-0,37

Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à ph 2	log D à ph 7
	métoprolol		37350-58-6	267,36	1,76	-1,48	-0,81
	propranolol		13013-17-7	259,34	2,58	-0,66	0,02
	sotalol		27948-47-6	272,36	-0,4	-3,19	-2,47
	timolol		131628-37-0	316,42	1,34	-1,91	-1,3
	acébutolol		37517-30-9	336,43	1,53	-1,71	-0,95
Antidépresseurs							

Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à pH 2	log D à pH 7
ATC	imipramine		50-49-7	280,41	4,28	0,77	2,1
ATC	doxépine		1668-19-5	279,38	3,84	0,34	1,15
ATC	amitriptyline		50-48-6	277,40	4,81	1,31	2,12
ISRS	fluoxétine		57226-07-0	309,33	4,17	0,93	1,5
Anticonvulsivants							
	primidone		125-33-7	218,25	1,12	1,12	1,12

Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à ph 2	log D à ph 7
	carbamazépine		298-46-4	236,27	2,77	2,77	2,77
Antihistaminiques							
	cétirizine		83881-51-0	388,89	0,86	-0,24	0,81
	ranitidine		66357-35-5	314,40	0,98	-3,6	-0,13
Autres							
Anticatabolisant	clenbuterol		37148-27-9	277,19	2,33	-1	-0,2
Stimulant	caféine		71701-02-5	194,19	-0,55	-0,55	-0,55

Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à ph 2	log D à ph 7
Bronchodilatateur	théophylline		58-55-9	180,16	-0,77	-0,77	-0,82
Inhibiteur de la PDE-5	sildénafil		139755-83-2	474,58	1,35	-1,51	1,65
Antihypertenseur	losartan		114798-26-4	422,91	5,08	2,95	2,84
Bronchodilatateur	salbutamol		18559-94-9	239,31	0,34	-2,36	-1,66
Antiagrégant plaquettaire	clopidogrel		113665-84-2	321,82	4,03	1,05	4,03

Famille Sous-famille	Analyte	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D à ph 2	log D à ph 7
Bronchodilatateur	terbutaline		46719-29-3	225,28	0,44	-1,89	-1,08
Antiarythmique	disopyramide		3737-09-5	339,47	3,47	-0,73	0,31

4.2.2 Données de consommation et d'occurrence des médicaments

Le Tableau 7 présente les données de consommation, calculées d'après la base de données MEDIC'AM, et d'occurrence, relevées dans la littérature. L'indice d'occurrence bibliographique correspond au nombre de résultats de la recherche « analyte + wastewater » sur le moteur de recherche Scopus : plus l'indice est élevé, plus les études l'étudiant sont nombreuses dans la littérature. Globalement, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ainsi que les β -bloquants sont les molécules les plus étudiées, l'occurrence bibliographique maximale étant relevée pour la carbamazépine. Les antirétroviraux et les psycholéptiques font partie des analytes à faible occurrence bibliographique. Les concentrations des effluents non traités varient de la centaine à plusieurs dizaines de milliers de nanogramme par litre, l'ordre de grandeur en sortie de station d'épuration étant de la centaine de nanogramme par litre. Concernant les eaux de rivières, les concentrations relevées peuvent varier selon l'eau de surface à l'étude, l'ordre de grandeur étant autour de la dizaine de nanogramme par litre.

Tableau 7. Données de consommation et d'occurrence des médicaments sélectionnés. L'indice d'occurrence bibliographique correspond au nombre de résultats de la recherche « analyte + wastewater » sur le moteur de recherche Scopus. Consommation : données MEDICAM. AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien, ATC : Antidépresseur TriCyclique, ISRS : Inhibiteur Sélectif de la Recapture de la Sérotonine. [1] Prasse *et al.*, 2010, [2] Kovalova *et al.*, 2013, [3] Capdeville, 2011, [4] Huerta-Fontela *et al.*, 2010, [5] Baker et Kasprzyk-Hordern, 2011, [6] González Alonso *et al.*, 2010, [7] Yuan *et al.*, 2013, [8] Silva *et al.*, 2011, [9] López-Serna *et al.*, 2010, [10] Hummel *et al.*, 2006, [11] Vanderford et Snyder, 2006, [12] Teerlink *et al.*, 2012, [13] Hass *et al.*, 2012, [14] Rosal *et al.*, 2010, [15] Gros *et al.*, 2006, [16] Ferrer et Thurman, 2012, [17] López-Serna *et al.*, 2011, [18] Quintana *et al.*, 2005, [19] Togola *et al.*, 2008, [20] Gabet-Giraud *et al.*, 2010, [21] Unceta *et al.*, 2010, [22] Soulier *et al.*, 2011, [23] Nieto *et al.*, 2010, [24] Yu et Wu, 2011, [25] Kim *et al.*, 2009.

Famille Sous-famille	Analyte	indice d'occurrence bibliographique	Consommation 2010		Concentration (ng.L ⁻¹)			Références
			Quantité (kg)	Rang	entrée	sortie	eau de surface	
Antirétroviraux								
	abacavir	2	2335	157	225	-	-	[1]
	indinavir	1	116	434	-	-	-	
	lamivudine	2	1733	185	720	-	-	[1]
	nelfinavir	1	9	600	-	-	-	
	névirapine	2	839	246	22	32	-	[1]
	ritonavir	3	771	257	24	6-134	-	[2], [3]
	saquinavir	0	582	281	-	-	-	
	zidovudine	4	1263	210	380	564, 14-142	-	[1], [3]
Psycholeptiques								
Benzodiazépine	bromazépam	5	1682	188	1288	335	-	[4]
Benzodiazépine	nordiazépam	7	137	412	16	6	26	[5], [6]
Benzodiazépine	alprazolam	12	145	406	30	29	-	[7]
Benzodiazépine	diazépam	78	418	315	49, 8	2, 7	7	[4], [5], [8], [9]
Benzodiazépine	oxazépam	24	5305	104	573, 22, 480	31, 33, 320	90	[4], [5], [10]
Benzodiazépine	lorazépam	12	312	339	164	150, 443	41	[4], [8], [9]
Benzodiazépine	clonazépam	3	206	379	-	-	-	
Carbamate	méprobamate	25	35937	23	1440, 35	1270, 80	18	[11], [12], [13]
Analgésiques								
AINS	kétoprofène	221	26900	28	441, 451	392, 318, 126	-	[8], [14], [15]
AINS	naproxène	330	22070	34	2363, 99	923, 108, 131	67, 22, 33	[8], [9], [14], [15], [16]

Famille Sous-famille	Analyte	indice d'occurrence bibliographique	Consommation 2010		Concentration (ng.L ⁻¹)			Références
			Quantité (kg)	Rang	entrée	sortie	eau de surface	
AINS	diclofénac	472	21744	35	232, 250	220, 215, 808	177, 29	[8], [9], [14], [15]
AINS	ibuprofène	481	133313	6	2687, 516	135, 266, 124	135, 21, 60	[8], [9], [14], [15], [16]
AINS	2-hydroxy-ibuprofène	7			-	-	150	[16]
Antalgique	paracétamol	298	2253197	1	23202, 10194	2102	147, 42	[9], [14], [15]
Hypolipidémiants								
Fibrate	gemfibrozil	192	3749	127	3525, 155	845, 120	2, 95, 46	[9], [14], [15], [16]
Fibrate	bézafibrate	130	7968	78	141, 23	128, 10	67, 8, 13	[9], [14], [15], [17]
Fibrate	acide 4- chlorobenzoïque	41			-	déteçté	40	[18], [19]
Fibrate	acide fénofibrique	15	43355	18	79	78	-	[14]
Fibrate	acide clofibrique	177	0	722	26, 72	12, 28	24, 11, 6	[9], [14], [15], [17]
Statine	pravastatine	16	6850	87	-	99	9	[8], [17]
Statine	atorvastatine	35	9131	71	-	23	2,4, 29	[8], [9], [17]
β-bloquants								
	aténoìol	180	12867	55	1197, 1063, 395	1025, 549, 400	63, 166, 72	[9], [14], [15], [16]
	bisoprolol	22	2326	158	103, 213	59, 90	-	[4], [20]
	métoprolol	130	5903	94	20, 273, 223	19, 407, 101, 156	327, 237	[4], [8], [14], [9], [16], [20]
	propranolol	115	9157	70	36, 11, 168	36, 17, 290	15, 53,	[4], [9], [14], [15], [16]
	sotalol	46	7749	79	22, 167, 1012	11, 185, 47, 1032	44, 70	[4], [8], [9], [15], [20]
	timolol	11	4	637	5	8, 5	-	[8], [20]
	acébutolol	15	26810	29	3, 2693	6, 475	-	[4], [20]
Antidépresseurs								
ATC	imipramine	6	92	454	41	43	-	[21]
ATC	doxépine	7	84	463	150	170	54	[10]
ATC	amitriptyline	28	2294	159	206, 214	66, 122	-	[5], [21]
ISRS	fluoxétine	131	1817	180	585, 31, 177	223, 16, 127	65	[5], [14], [16], [21]

Famille Sous-famille	Analyte	indice d'occurrence bibliographique	Consommation 2010		Concentration (ng.L ⁻¹)			Références
			Quantité (kg)	Rang	entrée	sortie	eau de surface	
Anticonvulsivants								
	primidone	45	899	241	132	120, 650	150	[4], [13]
	carbamazépine	541	19978	37	129, 68, 420	117, 81, 410	58, 350, 30	[4], [9], [14], [15], [16]
Antihistaminiques								
	cétirizine	15	594	280	692,	367	70	[4], [16]
	ranitidine	56	5981	91	524, 188	360, 135, 260	61, 10	[8], [9], [14], [15]
Autres								
Anticatabolisant	clenbuterol	13			-	-	3	[17]
Stimulant	caféine	289	4	631	22849, 23778	1176, 1744	220, 742	[5], [14], [16]
Bronchodilatateur	théophylline	14	4901	108	15607	139	-	[22]
Inhibiteur de la PDE-5	sildénafil	7			15, 53	10, 13	-	[5], [23]
Antihypertenseur	losartan	8	8974	74	569	533	-	[4]
Bronchodilatateur	salbutamol	38	184	392	19	14, 19	5	[8], [9], [22]
Antiagrégant plaquettaire	clopidogrel	4	19780	38	-	-	-	
Bronchodilatateur	terbutaline	13	163	397	310, 7	7	-	[22], [24]
Antiarythmique	disopyramide	4	1122	225	-	500	-	[25]

4.2.3 Données de métabolisme des médicaments

Les données de métabolisation humaine des médicaments sélectionnés sont présentées dans le Tableau 8. On constate à nouveau la grande diversité des comportements des médicaments à l'étude puisque certaines molécules sont entièrement métabolisées (cas des benzodiazépines), conduisant à la formation de métabolites, tandis que d'autres sont excrétées presque exclusivement sous forme inchangée (ritonavir, aténolol). Dans le cas des benzodiazépines, on note que les schémas de métabolisation des benzodiazépines sont complexes puisque le nordiazépam est un métabolite du diazépam (et d'autres benzodiazépines non étudiées) lui-même métabolisé en oxazépam, puis glucuroconjugué. De la même façon, la cétirizine est également le métabolite principal de l'hydroxyzine (non étudiée), les acides fénofibrique et clofibrique étant les métabolites de fénofibrate et clofibrate. L'excrétion de la forme mère du médicament sous forme conjuguée concerne 24 analytes.

Tableau 8. Données de métabolisme des médicaments sélectionnés. Sauf indication complémentaire, les pourcentages d'excrétion sous forme inchangée concernent la voie rénale. Données Vidal (www.vidal.fr) et Drugbank (www.drugbank.ca). AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien, ATC : Antidépresseur TriCyclique, ISRS : Inhibiteur Sélectif de la Recapture de la Sérotonine.

Famille Sous-famille	Analyte	Excrétion sous forme inchangée (%)	Conjugaison	Métabolites principaux
Antirétroviraux				
	abacavir	1	-	métabolites glucuronidés, métabolite carboxylate et autres métabolites mineurs
	indinavir	10-12 par voie rénale (17%), 19 fèces (80%)	oui	7 métabolites : 1 glucuroconjugué et 6 oxydés
	lamivudine	90-95	-	faible métabolisme hépatique
	nelfinavir	100 par voie rénale (2%), 22 fèces (87%)	-	ter-butyl-hydroxy-nelfinavir principal + métabolites mineurs
	névirapine	3 par voie rénale (81%)	oui (métabolites)	métabolites hydroxylés puis conjugués
	ritonavir	100 fèces (86%)	-	métabolite principal par oxydation de l'isopropylthiazole
	saquinavir	négligeable	-	métabolisation complète : composés mono et dihydroxylés
	zidovudine	14	oui	métabolite 5-glucuroconjugué majoritaire, 3-amino-3-déoxythymidine mineur
Psycholeptiques				
Benzodiazépine	bromazéпам	négligeable	oui (métabolites)	2 métabolites principaux : 2-(2-amino-5-bromo-3-hydroxybenzoyl) pyridine et 3-hydroxy-bromazéпам
Benzodiazépine	nordiazéпам	négligeable	oui (métabolites)	oxazéпам
Benzodiazépine	alprazolam	négligeable	oui	hydroxy-alprazolam
Benzodiazépine	diazéпам	négligeable	oui	nordiazéпам puis oxazéпам après hydroxylation
Benzodiazépine	oxazéпам	négligeable	oui	oxazéпам glucuroconjugué
Benzodiazépine	lorazéпам	négligeable	oui	lorazéпам glucuroconjugué
Benzodiazépine	clonazéпам	négligeable	-	7-amino-clonazéпам
Carbamate	méprobamate	10	oui	hydroxyméprobamate
Analgésiques				
AINS	kétoprofène	négligeable	oui	kétoprofène glucuroconjugué majeur, hydroxylé mineur
AINS	naproxène	70	oui	desméthyl-naproxène

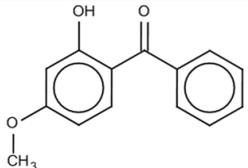
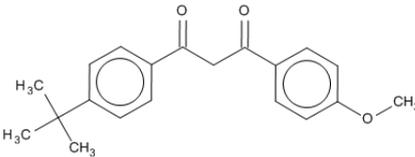
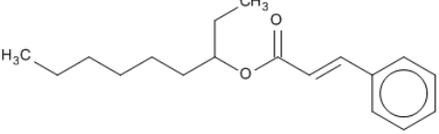
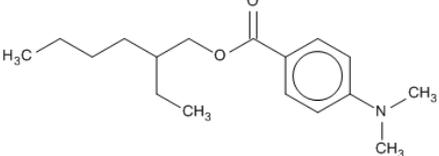
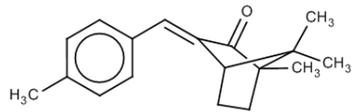
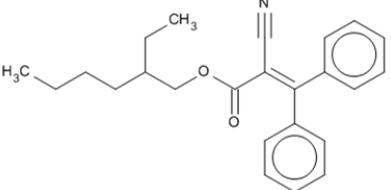
Famille Sous-famille	Analyte	Excrétion sous forme inchangée (%)	Conjugaison	Métabolites principaux
AINS	diclofénac	négligeable	oui	métabolite hydroxylé puis conjugué
AINS	ibuprofène	10	oui	ibuprofène conjugué essentiellement
AINS	2-hydroxy-ibuprofène		oui	-
Antalgique	paracétamol	négligeable	oui	paracétamol glucuro- et sulfoconjugué
Hypolipidémiants				
Fibrate	gemfibrozil	6	oui	dérivés hydroxyméthyle et carboxyle
Fibrate	bézafibrate	majeure	oui	bézafibrate conjugué
Fibrate	acide 4-chlorobenzoïque		-	-
Fibrate	acide fénofibrique		oui	-
Fibrate	acide clofibrique		oui	-
Statine	pravastatine	majeure	-	métabolite 3 alpha-hydroxy
Statine	atorvastatine	négligeable	-	ortho et para hydroxylation puis plusieurs produits de β -oxydation
β-bloquants				
	aténolol	85-100	-	-
	bisoprolol	50	-	-
	métoprolol	négligeable	-	alpha-hydroxymétoprolol
	propranolol	négligeable	oui	4-hydroxypropranolol
	sotalol	80-90	-	-
	timolol	10-20	-	-
	acébutolol	30-40	-	dérivé N-acétylé : diacétolol
Antidépresseurs				
ATC	imipramine	négligeable	oui	desméthylimipramine majoritaire et dérivés hydroxylés mineurs
ATC	doxépine	négligeable	oui	N-déméthylation puis hydroxylation ou N-oxydation
ATC	amitriptyline	négligeable	oui	nortriptyline puis hydroxylation
ISRS	fluoxétine	négligeable	-	norfluoxétine
Anticonvulsivants				
	primidone	40	oui (métabolites)	phénobarbital et phényl-éthyl-malondiamide

Famille Sous-famille	Analyte	Excrétion sous forme inchangée (%)	Conjugaison	Métabolites principaux
	carbamazépine	négligeable	-	10-11-époxy-carbamazépine et 10,11-dihydroxycarbamazépine
Antihistaminiques				
	cétirizine	67	-	métabolite O-déalkylé
	ranitidine	50	-	métabolites N-oxydé, S-oxydé et N-deméthylé
Autres				
Anticatabolisant	clenbuterol		oui	-
Stimulant	caféine	négligeable	-	théophylline, théobromine, paraxanthine
Bronchodilatateur	théophylline	10-13	-	acide 1,3-diméthylurique, acide 1-méthylurique, 3-méthyl-xanthine
Inhibiteur de la PDE-5	sildénafil	négligeable	-	N-déméthylation
Antihypertenseur	losartan	négligeable	-	Métabolite acide carboxylique
Bronchodilatateur	salbutamol	75	oui (si ingéré)	-
Antiagrégant plaquettaire	clopidogrel	<15	-	dérivé acide carboxylique majoritaire
Bronchodilatateur	terbutaline	<10	oui	dérivés sulfoconjugué
Antiarythmique	disopyramide	50	-	N-mono-déalkyl-disopyramide

4.2.4 Propriétés physico-chimiques des filtres UV

Les propriétés physico-chimiques des filtres UV sont données dans le Tableau 9. Les coefficients de partage octanol-eau sont tous supérieurs à 3,6 et les formes ionisées des filtres UV, lorsqu'elles existent, sont minoritaires ($\log K_{ow} \approx \log D$).

Tableau 9. Structure, n° CAS et propriétés physico-chimiques des filtres UV sélectionnés. INCI : International Nomenclature of Cosmetic Ingredients. Propriétés physico-chimiques : www.chemicalize.org (ChemAxon).

Analyte Nom INCI	Structure	n° CAS	Masse moléculaire g.mol ⁻¹	log Kow	log D	
					pH 2	pH 7
Oxybenzone Benzophénone-3		131-57-7	228,24	3,62	3,62	3,59
Avobenzone Butyl Méthyldibenzoylméthane		70356-09-1	310,39	4,56	4,56	4,56
EHMC Ethylhexyl Méthoxycinnamate		5466-77-3	290,40	6,11	6,11	6,11
ODPABA Ethylhexyl Diméthyl Paba		21245-02-3	277,40	5,11	4,16	5,11
4-MBC 4-Méthylbenzylidène Camphre		36861-47-9	254,37	5,12	5,12	5,12
Octocrylène Octocrylène		6197-30-4	361,48	6,78	6,78	6,78

4.2.5 Données de production et d'occurrence des filtres UV

Le Tableau 10 présente les données de production des filtres UV ainsi que leur occurrence bibliographique. Oxybenzone et octocrylène sont les filtres UV les plus étudiés, leur indice d'occurrence bibliographique est néanmoins très inférieur à celui des médicaments très étudiés. L'avobenzone, peu étudié, avec des limites de détection relativement hautes (25 ng.L⁻¹) est produit avec un fort tonnage, ce qui a motivé sa sélection.

Tableau 10. Données de production et d'occurrence des filtres UV sélectionnés. L'indice d'occurrence bibliographique correspond au nombre de résultats de la recherche « analyte + wastewater » sur le moteur de recherche Scopus. La production est donnée pour les molécules enregistrées dans le cadre de REACH (site de l'ECHA). [1] Balmer *et al.*, 2005, [2] Liu *et al.*, 2012, [3] Gago-Ferrero *et al.*, 2013b, [4] Rodil *et al.*, 2008, [5] Rodil et Moeder (2008a), [6] Kameda *et al.*, 2011

Analyte	indice d'occurrence biblio.	Production t.an ⁻¹	Concentration (ng.L ⁻¹)			Références
			entrée	sortie	milieu	
oxybenzone	42	10-100	2680, 3110, 182	690, 490, 34	23, 37	[1], [2], [3]
avobenzone	3	1000-10000	< 25 (LD)	< 25 (LD)	< 25 (LD)	[4]
EHMC	8	1000-10000	3950, 320	72, 50	5	[1], [2]
ODPABA	4	-	-	5	7, 2	[5], [6]
4-MBC	11	-	3280, 410, 48	2700, 140	29	[1], [2], [3]
octocrylène	24	1000-10000	1070, 90	123, 70	5, 9	[1], [2], [6]

5 Comportement des molécules d'intérêt en STEP

5.1 Généralités

La réduction de l'émission des résidus de médicaments et des filtres UV dans l'environnement peut s'envisager de plusieurs façon (Choubert *et al.*, 2011a) : par diminution de leur consommation, par optimisation des procédés de traitement existant ou par l'instauration de nouveaux procédés ayant vocation à abattre spécifiquement les micropolluants organiques. On qualifie les performances de traitement d'une molécule dans un procédé de traitement par son rendement d'épuration, c'est-à-dire le taux d'abattement du flux entre l'entrée et la sortie du procédé.

5.1.1 Traitement primaire

Le traitement primaire des eaux usées consiste en une simple décantation des particules en suspension de l'effluent, faisant généralement suite à son dessablage/dégraissage. Des réactifs de précipitation (chlorure ferrique, polymères anioniques dérivés de polyacrylamides) peuvent être ajoutés pour favoriser la décantation. Le piégeage des MES permet une élimination des micropolluants organiques hydrophobes comme les PBDE ou les HAP (Choubert *et al.*, 2011b) mais le traitement primaire est d'efficacité mineure pour l'élimination des molécules plus hydrophiles comme les médicaments (Soulier *et al.*, 2011; Stasinakis *et al.*, 2013).

5.1.2 Traitement secondaire par boues activées

Le traitement des eaux usées par procédé biologique de boues activées est d'usage courant en France. Ce procédé a pour but de favoriser le développement de bactéries afin que celles-ci éliminent la matière organique de l'effluent primaire par leur propre développement. Les floccs servent de support aux bactéries et sont en partie retournés au bassin et en partie soutirés : on obtient donc un temps de séjour des boues. La seconde étape de ce traitement est la décantation où

les deux phases solide et liquide vont être séparées en récupérant le surnageant et en soutirant les boues activées.

Les micropolluants organiques contenus dans l'effluent primaire peuvent être dégradés par les bactéries (biodégradation), adsorbés à la surface des floccs ou rester dissous dans le liquide interstitiel (Pomiès *et al.*, 2013). La part de ces phénomènes est propre à chaque molécule et à ses propriétés physico-chimiques ; Stasinakis *et al.* (2013) évaluent à 8 et 17 % l'adsorption du naproxène et du diclofénac sur les boues, contre 50 et 30 % de perte par dégradation, respectivement. Cette même étude donne une dégradation à plus de 99 % de l'ibuprofène, non détecté dans les boues. Plus le temps de rétention des boues est grand, plus les micropolluants sont susceptibles d'y être adsorbés ou biodégradés par les bactéries (Radjenović *et al.*, 2009). En règle générale, le rendement d'élimination des micropolluants est plus élevé lorsqu'il y a traitement de l'azote (oxydation de l'ammonium en nitrate), cela étant obtenu pour des temps de séjour des boues supérieurs à 10 j à 10 °C (Choubert, communication personnelle). Cependant, un temps de rétention élevé, impliquant l'utilisation de boues âgées, favorise le développement de bactéries filamenteuses indésirables, rentrant en compétition avec les bactéries désirées et empêchant les boues activées de décanter. Le traitement usuel par boues activées des micropolluants organiques est donc limité par cette contrainte sur le temps de rétention.

5.1.3 Traitement secondaire par bioréacteurs à membranes (MBR)

Le bioréacteur à membrane est une amélioration du traitement biologique classique par boues activées. Le décanteur final est remplacé par un dispositif de filtration (micro ou ultrafiltration) situé dans le dernier bassin de traitement biologique. Il s'agit la plupart du temps de faisceaux de fibres immergés (dans Radjenović *et al.* (2009), le diamètre des pores est de 0,4 µm pour la microfiltration et de 0,05 µm pour l'ultrafiltration). Cette technique permet de s'affranchir de l'étape de décantation et donc du problème de filamentation limitant la décantation. Les bactéries filamenteuses ne sont plus indésirables et participent de façon bénéfique à la consommation de la matière organique. L'augmentation du temps de rétention des boues entraîne l'augmentation de la biomasse et permet un meilleur retrait des micropolluants organiques de la phase dissoute, soit par adsorption soit par biodégradation par les bactéries.

La comparaison du traitement usuel par boues activées et de bioréacteurs à membrane pour 31 médicaments montre un rendement d'épuration sensiblement amélioré en utilisant ce dernier procédé, jusqu'à 50 % d'élimination supplémentaire (Radjenović *et al.*, 2009 ; Figure 5). Martin Ruel *et al.* (2010) ont confirmé les performances supérieures des bioréacteurs à membrane par rapport aux boues activées, en particulier pour les molécules les plus hydrophobes.

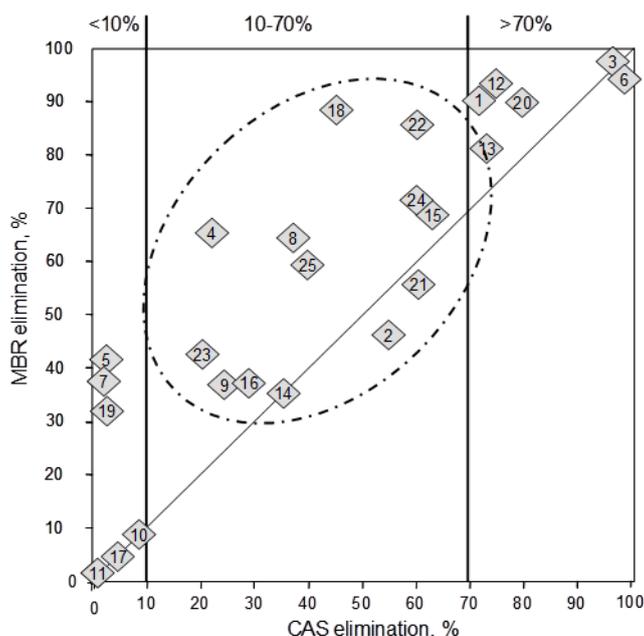


Figure 5. Comparaison du rendement d'épuration moyen de 25 médicaments par traitement à boues activées conventionnelles (CAS, temps de séjour des boues : 10 j) et bioréacteur membranaire (MBR) : 1. naproxène, 2. kétoprofène, 3. ibuprofène, 4. diclofénac, 5. indométacine, 6. paracétamol, 7. acide méfénamique, 8. propyphénazone, 9. ranitidine, 10. loratadine, 11. carbamazépine, 12. ofloxacine, 13. sulfaméthoxazole, 14. érythromycine, 15. aténolol, 16. métoprolol, 17. hydrochlorothiazide, 18. glibenclamide, 19. gemfibrozil, 20. bézafibrate, 21. famotidine, 22. pravastatine, 23. sotalol, 24, propranolol, 25. triméthoprime (Radjenović *et al.*, 2009). A noter de meilleures performances de traitement de l'azote observées dans le cas des bioréacteurs membranaires.

5.1.4 Traitement secondaire par procédés à cultures fixées

Ce procédé de traitement consiste également en une épuration biologique, les micro-organismes étant fixés sur un support. On distingue les lits bactériens, utilisant des galets ou des supports alvéolaires, et les biofiltres, utilisant des matériaux de plus petite taille comme des argiles cuites, des schistes, du polystyrène, des graviers ou des sables.

Choubert *et al.* (2011a) ont comparé les rendements d'épuration entre procédés à cultures fixées et boues activées : une majorité de molécules présentent un rendement d'épuration équivalent entre ces deux procédés et les auteurs concluent qu'il n'est pas possible de les différencier.

5.2 Les apports du projet AMPERES

Le projet de recherche AMPERES (analyse des micropolluants prioritaires et émergents dans les rejets et les eaux de surface) s'est déroulé de 2006 à 2009 et visait à étudier les micropolluants contenus dans les eaux usées urbaines et les boues de STEP en France. Le suivi de 21 stations d'épuration et de 8 filières de traitement a permis d'évaluer les performances d'élimination des filières d'épuration conventionnelles pour les eaux et les boues, ainsi que de certaines filières avancées pour le traitement de l'eau (Coquery, 2009).

Les fréquences de quantification et les niveaux de concentration des substances prioritaires de la DCE ainsi que de 38 médicaments ont été évalués, confirmant le caractère ubiquiste des médicaments dans les eaux usées. L'analyse des phases dissoute et particulaire en entrée et en sortie de STEP a montré que le flux en médicaments était majoritairement porté par la phase dissoute, un partage pouvant atteindre 50 % sur les effluents d'entrée a toutefois été observé pour les molécules les plus hydrophobes : amitriptyline, bromazépam, doxépine et fluoxétine (Soulie *et al.*, 2011). L'analyse des boues de STEP a révélé des fréquences de quantification globalement inférieures à celles observées en phase dissoute des effluents. En outre, les concentrations en médicaments y sont de l'ordre de $0,1 \mu\text{g.g}^{-1}$ quand les concentrations en HAP, alkylphénols ou métaux sont respectivement de l'ordre de $1 - 100 \mu\text{g.g}^{-1}$, $1\ 000 - 10\ 000 \mu\text{g.g}^{-1}$ et $> 10\ 000 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Coquery *et al.*, 2011). Relativement à ces molécules, les médicaments sont donc quantifiés à de faibles concentrations dans les boues de STEP.

L'élimination des médicaments de la phase dissoute s'est révélée incomplète puisque de nombreux médicaments ont été quantifiés en sortie de STEP (Soulie *et al.*, 2011). Les rendements d'élimination de procédés de traitement secondaires biologiques dépendent de chaque molécule : entre 90 et 100 % pour les hormones, l'acébutolol ou le paracétamol contre des rendements inférieurs à 10 %, voire négatifs, pour la carbamazépine, l'oxprénolol ou le diclofénac. Dans le détail des procédés de traitement, la décantation primaire, qu'elle soit simple ou physico-chimique par ajout de coagulant, ne permet pas une élimination des médicaments des effluents, alors qu'elle est efficace pour une élimination des micropolluants organiques et métalliques hydrophobes par piégeage dans les MES, comme c'est le cas pour les PBDE, les HAP et plusieurs métaux (Choubert *et al.*, 2011b). Lorsqu'un traitement tertiaire avancé est appliqué aux effluents de sortie de traitement biologique, une amélioration des rendements d'épuration a été constatée par ozonation, filtration sur charbon actif et osmose inverse. Lorsqu'il s'agit de traitements tertiaires dits d'affinage (décantation rapide, filtration sur sable et lagunage) les rendements ne sont pas sensiblement améliorés.

Les variabilités inter-journalières ont été caractérisées sur 3 jours consécutifs et se sont révélées faibles : inférieures à 50 % pour une majorité de composés (Soulie *et al.*, 2011). En revanche, les variabilités inter-STEP sont élevées, en entrée (91 %) comme en sortie de STEP (92 %). La comparaison des STEP situées en zones rurales aux STEP situées en zones urbaines n'a pas permis de mettre en évidence une différence significative des niveaux de concentration, la variabilité des concentrations était en revanche supérieure en zone rurale pour 10 des médicaments étudiés (œstriol, metoprolol, nadolol, bisoprolol, acébutolol, aténolol, kétoprofène, théophylline, aspirine et sulfaméthoxazole).

6 Comportement des molécules d'intérêt dans l'environnement

Les médicaments et les filtres UV sont donc déversés continuellement dans l'environnement, principalement *via* les phases dissoute et particulaire des effluents de STEP. Le devenir de ces molécules après rejet est ici examiné.

6.1 Transport, adsorption et dégradation

6.1.1 Transport

Après rejet dans l'environnement et en l'absence de dégradation ou d'adsorption, les molécules d'intérêt dissoutes suivent le déplacement des masses d'eau et, selon le transport de celles-ci, sont susceptibles d'atteindre le milieu marin (Benotti et Brownawell, 2007 ; Vidal-Dorsch *et al.*, 2012) ou les eaux souterraines (Vulliet et Cren-Olivé, 2011 ; Hass *et al.*, 2012). Bayen *et al.* (2013) ont ainsi montré un lien entre hydrodynamisme et concentrations en médicaments (carbamazépine en particulier) dans l'environnement côtier de Singapour avec les concentrations les plus élevées aux points de prélèvement à temps de résidence élevé, indiquant une plus faible dilution. Banzhaf *et al.* (2013) ont observé un gradient décroissant de concentration de la rivière luxembourgeoise Mess vers la nappe souterraine pour la carbamazépine, le sulfaméthoxazole et la sulfaméthazine et proposent l'utilisation de ces molécules comme traceurs des échanges entre eau de surface et eau souterraine. Le filtre UV EHMC a été détecté (mais non quantifié) dans les sédiments de la Baie Allemande, prolongeant l'estuaire de la rivière Elbe (Schwarzbauer *et al.*, 2000). Compte tenu de l'origine urbaine de cette molécule, les auteurs concluent à son transport des STEP aux sédiments estuariens et donc à sa relative stabilité.

6.1.2 Adsorption

L'affinité des analytes pour la phase solide (sédiment et particules en suspension) dépend des propriétés physico-chimiques de chaque analyte et de celles de la phase solide et est décrite par le coefficient de partage entre phase solide et phase dissoute (K_d). Ce coefficient peut être estimé grâce au coefficient de partage octanol-eau (K_{ow}) dans le cas des molécules neutres, comme les HAP et les PCB. Les médicaments, en revanche, sont généralement présents sous formes ionisées dans le milieu et les interactions entre les molécules et la phase solide sont plus complexes que dans le cas de molécules neutres (Fatta-Kassinos *et al.*, 2011). Ainsi, en raison des charges négatives généralement présentes à la surface de la matière organique du sol (Lapworth *et al.*, 2012), les médicaments sous forme cationique, de pKa supérieur à 7, présentent une affinité supérieure avec le sédiment. De ce fait, Silva *et al.* (2011) observent une adsorption préférentielle sur les particules en suspension des molécules comportant des fonctions amine comme les β -bloquants, la proportion d'analyte porté par la phase particulaire atteignant 100 % pour 8 des 31 molécules à l'étude (famotidine, cimétidine, timolol, nadolol, salbutamol, glibenclamide, sulfaméthazine, chloramphénicol). Cette même étude a rapporté une contamination variable des sédiments le long de la rivière, les maximums de concentration étant atteints en aval des STEP et pour des sédiments riches en carbone organique. D'autre part, Baker et Kasprzyk-Hordern (2011a) ont mesuré des partages vers les particules en suspension allant de 15 à plus de 50 % pour sildénafil, amitriptyline et fluoxétine. En outre, les sédiments riches en carbone organique et en argile sont plus adsorbants (Lapworth *et al.*, 2012).

Lors d'expériences de dégradation, l'adsorption des molécules d'intérêt aux particules n'est pas nécessairement le phénomène de disparition de la phase dissoute majoritaire puisque les expériences d'incubation d'eaux côtières dopées conduites par Benotti et Brownawell (2009) sur une sélection de 19 molécules, dont la fluoxétine, ont montré une adsorption minime des composés (< 2 % de la concentration totale) à des concentrations en MES de 1 g.L⁻¹.

Dans le cas des filtres UV, leur hydrophobie ainsi que l'absence de formes ionisées au pH des eaux naturelles suggèrent un partage non négligeable vers la phase particulaire, bien qu'aucune donnée concernant ce partage ne soit disponible dans la littérature. Kameda *et al.* (2011) ont détecté EHMC et octocrylène dans 15, respectivement 12 des 18 échantillons de sédiments de rivières japonaises, à des concentrations de l'ordre du nanogramme par gramme de sédiment (poids sec). Ces mêmes filtres UV ont également été détectés dans les sédiments de rivières allemandes, à des concentrations en EHMC allant de 14 à 34 ng.g⁻¹ poids sec et en octocrylène de 61 à 93 ng.g⁻¹ poids sec (Rodil et Moeder, 2008b).

6.1.3 Biodégradation

La biodégradation concerne les phénomènes de dégradation par les micro-organismes. L'essentiel des études de dégradation microbienne des molécules d'intérêt est consacrée au traitement biologique en STEP (Chong, 2009 ; Almeida *et al.*, 2013 ; Pomiès *et al.*, 2013). Bradley *et al.* (2007) ont mis en évidence la dégradation de la caféine, de la cotinine et de la nicotine opérée par les microorganismes portés par le sédiments, invalidant l'utilisation de ces molécules comme traceurs conservatifs de rejets de STEP. Les expériences d'incubation conduites par Benotti et Brownawell (2009) ont montré une différence de cinétique de biodégradation entre les molécules d'intérêt : le temps de demi-vie du paracétamol est inférieur à 1 j contre plus de 100 j pour la carbamazépine, la biodégradabilité étant corrélée à la dégradabilité en STEP. En outre, des cinétiques plus rapides ont été mesurées dans les eaux les plus côtières, également les plus eutrophisées. Yamamoto *et al.* (2009) observent également des différences de cinétique de dégradation selon la provenance de l'eau du milieu incubé et mesurent, sur 120 h d'incubation, plus de 80 % de la concentration initiale pour 7 des 8 médicaments, le paracétamol atteignant 50 %. Les cinétiques de biodégradation sont globalement plus lentes que celles observées pour de plus petites molécules comme le glucose et les acides aminés (Benotti et Brownawell, 2009) ou le dodécylbenzènesulfonate de sodium, témoin biodégradable dans l'étude de Yamamoto *et al.* (2009). La biodégradation est généralement plus rapide dans des conditions oxygènes qu'anoxiques (Lapworth *et al.*, 2012 ; Lahti et Oikari, 2011). Dans le cas des filtres UV, Y.-S. Liu *et al.* (2013) ont montré que les 4 filtres UV à l'étude (oxybenzone, 4-MBC, EHMC, octocrylène) étaient biodégradables au contact de sédiments, oxybenzone et EHMC ayant des temps de demi-vie courts, de 1 à 8 j selon les conditions contre 10 à 85 j pour 4-MBC et octocrylène. En outre, les auteurs ont montré que des conditions anaérobiques ralentissaient la cinétique de dégradation.

Il est important de noter que la dégradation des pharmaceutiques dans l'environnement est différente de celle observée lors de leur métabolisation humaine : carbamazépine et diazépam sont rapidement métabolisés dans le corps humain mais sont stables dans le milieu aquatique (Pal *et al.*, 2010).

6.1.4 Dégradation abiotique

Soumis au rayonnement solaire, les molécules d'intérêt peuvent subir une dégradation photochimique. La vitesse de cette transformation va dépendre de l'absorption de la lumière par le

composé et de l'efficacité des photons à induire une transformation chimique, caractérisées respectivement par le coefficient d'absorption molaire aux longueurs d'onde du rayonnement solaire (> 300 nm) et par le rendement quantique de phototransformation. La photolyse peut également intervenir par voie indirecte, par l'intermédiaire de radicaux réactifs formés par irradiation des ions nitrate ou de la matière organique dissoute (Packer *et al.*, 2003). L'étude de la photodégradation de quatre benzodiazépines par Calisto *et al.* (2011) a montré une dégradation rapide de lorazépam, avec des temps de demi-vie inférieurs à un jour d'été ensoleillé et une relative stabilité d'oxazépam, diazépam et alprazolam, aux temps de demi-vie de 4, 7 et 228 j, respectivement. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens naproxène et diclofénac sont également photodégradables, avec des demi-vies inférieures à l'heure tandis qu'ibuprofène est photostable en raison de sa faible absorbance aux longueurs d'onde du spectre solaire (Packer *et al.*, 2003). Dans le cas des fibrates, gemfibrozil et bézafibrate sont photostables, l'acide fénofibrique étant complètement dégradé en 100 h d'irradiation (Cermola *et al.*, 2005).

Les filtres UV, conçus pour absorber les longueurs d'onde supérieures à 300 nm, ne sont pas tous photostables puisque Rodil *et al.* (2009) ont montré que les molécules EHMC et ODPABA présentaient des demi-vies de 20 et 21 h sous irradiation solaire simulée, l'octocrylène, l'oxybenzone et le 4-MBC étant stables lors des 72 h d'expérience. Les auteurs ont également mis en évidence une modification des rapports entre isomères Z et E des molécules 4-MBC et EHMC après irradiation or, d'un point de vue écotoxicologique, deux stéréoisomères peuvent avoir des toxicités différentes et Buser *et al.* (2005) ont montré une concentration sélective des isomères du 4-MBC dans des tissus de poisson. L'irradiation solaire peut donc être responsable de la formation de produits phototransformés, en particulier des photoisomères, potentiellement plus toxiques que les composés parents.

6.2 Impact sur le biote

La contamination des eaux de surface par les médicaments et les filtres UV étant quasi-généralisée, les interactions entre le biote et ces micropolluants sont ici présentées.

6.2.1 Bioaccumulation

On observe une bioaccumulation lorsque la quantité absorbée d'un composé par les organismes est supérieure à celle excrétée ou dégradée. L'absorption peut avoir lieu directement au travers de la barrière cutanée ou *via* les zones d'échanges que sont les branchies et la paroi digestive. Brooks *et al.* (2005) ont ainsi mis en évidence la bioaccumulation de la fluoxétine et de la sertraline dans les muscles, le foie et le cerveau chez trois espèces de poisson de rivière à des concentrations variant de 0,1 à 10 ng.g⁻¹ (poids total). Le diazépam a également été détecté dans le foie d'une espèce de poisson plat vivant à proximité de rejets de STEP à une concentration moyenne de 56 ng.g⁻¹ (poids total), les 3 autres analytes carbamazépine, oxybenzone et simvastatine n'y ayant pas été détectés (Maruya *et al.*, 2012). Les filtres UV oxybenzone, 4-MBC et EHMC ont été détectés dans des gardons de lacs suisses à des concentrations de 112, 80 et 64 ng.g⁻¹ de lipides, respectivement (Balmer *et al.*, 2005). L'octocrylène a également été mesuré dans les foies de dauphins prélevés le long des côtes brésiliennes à des concentrations comprises entre 89 et 782 ng.g⁻¹ de lipides (Gago-Ferrero *et al.*, 2013a) et l'EHMC a été systématiquement détecté dans des échantillons de moules prélevés sur les

côtes françaises (Bachelot *et al.*, 2012). La corrélation entre log D et facteur de bioaccumulation a été mise en évidence par Jeon *et al.* (2013) sur un jeu de 4 médicaments et de 2 biocides. Les analytes les plus hydrophobes, comme les filtres UV et les médicaments ritonavir, clopidogrel et nelfinavir sont donc susceptibles d'être accumulés dans les organismes aquatiques.

Parmi les médicaments, Klosterhaus *et al.* (2013) détecte uniquement la carbamazépine dans des moules prélevées en baie de San Francisco, à des concentrations maximales de 5 ng.g^{-1} (poids total), alors que de nombreuses autres molécules sont détectées dans les eaux (aténolol, caféine, gemfibrozil, sulfaméthoxazole, méprobamate, valsartan), suggérant la faible bioaccumulation des médicaments étudiés.

6.2.2 Toxicité et écotoxicité

Des effets toxiques peuvent survenir sans bioaccumulation et l'enjeu associé aux médicaments concerne leur toxicité chronique, consécutive à des expositions à de faibles concentrations à long-terme. Les seuils de toxicité aiguë, caractérisés par la LC50 (concentration létale pour 50 % des individus), sont élevés, supérieurs au milligramme par litre (Fent *et al.*, 2006), concentrations très largement supérieures à celles rencontrées dans le milieu. Les LC50 des médicaments recensés dans l'étude de Fernández *et al.* (2010) pour des cladocères (zooplancton) varient de 0,5 à près de 200 mg.L^{-1} , fluoxétine et propranolol présentant les seuils les plus bas (respectivement 0,5 et $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$).

Des effets peuvent également être observés à des concentrations sensiblement plus faibles, comme l'indique la Figure 6, extraite de l'article de synthèse de Boxall *et al.* (2012). L'éthinylestradiol induit des effets biochimiques, cellulaires et comportementaux à des concentrations comprises entre 1 et 100 ng.L^{-1} , diclofénac, fluoxétine, kétoconazole et oxytétracycline provoquent des réponses biochimiques à des concentrations comprises entre 0,1 et $10 \mu\text{g.L}^{-1}$.

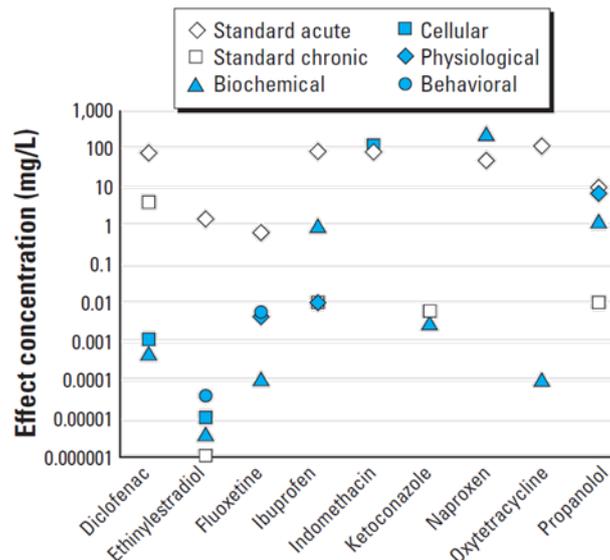


Figure 6. Concentrations efficaces médianes (EC50) de 9 médicaments en fonction des tests standardisés de toxicité aiguë (standard acute) et de toxicité chronique sur les critères de la reproduction et du développement (standard chronic) et en fonction de tests non standardisés d'effets biochimiques (biochemical), cellulaires (cellular), physiologiques (physiological) et comportementaux (behavioral) sur des poissons et des invertébrés. Boxall *et al.*, 2012.

Schwaiger *et al.* (2004) ont observé des lésions rénales sur des truites arc-en-ciel exposées à $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ de diclofénac. Par ailleurs, l'exposition de l'invertébré benthique *Gammarus Pulex* à de faibles concentrations en ibuprofène et fluoxétine ($10\text{-}100 \text{ ng.L}^{-1}$) a entraîné une diminution significative de son activité (De Lange *et al.*, 2006). Brodin *et al.* (2013) ont montré que le comportement de la perche européenne, exposée à des concentrations en oxazépam caractéristiques d'effluent de STEP de $1,8 \mu\text{g.L}^{-1}$, était altéré, avec une augmentation de sa fréquence d'alimentation et de son activité ainsi qu'une diminution de son comportement social. Concernant les effets sur les algues marines, Rodil *et al.* (2009) ont montré que l'oxybenzone, l'EHMC et l'ODPABA inhibaient significativement le développement de l'espèce *Scenedesmus vacuolatus* à des concentrations de quelques centaines de nanogramme par litre. Les filtres-UV provoquent également le blanchissement des coraux en favorisant les infections virales (Danovaro *et al.*, 2008). D'autre part, le filtre UV 4-MBC agit comme perturbateur endocrinien après son injection chez le rat (Tinwell *et al.*, 2002).

Enfin, on note que la plupart des études de toxicité *in-vitro* reposent sur les effets d'une unique molécule alors qu'*in-situ*, les organismes sont exposés à une multitude de contaminants, incluant les molécules mères et de nombreux métabolites. Il est donc fortement probable que ces molécules montrent des effets synergiques, même à des concentrations inférieures aux seuils de toxicité des molécules individuelles (Huerta *et al.*, 2012).

7 L'hydrosystème de la Gironde soumis aux rejets urbains

7.1 Morphologie

L'hydrosystème estuarien Garonne-Dordogne-Gironde (Figure 7) se situe dans le sud-ouest de la France. Il est formé par la confluence de la Garonne, longue de 647 km au bassin versant de $51\,500 \text{ km}^2$ et de la Dordogne, longue de 490 km au bassin versant de $22\,000 \text{ km}^2$ (Schäfer *et al.*, 2002). Les distances longitudinales sur l'estuaire sont comptées en points kilométriques (PK), l'origine étant le pont de pierre de Bordeaux. On découpe couramment l'estuaire en 3 zones distinctes (Allen, 1972) :

- l'estuaire fluvial, à l'amont du bec d'Ambès et jusqu'à la limite de la marée dynamique (limite d'inversion du courant) ;
- l'estuaire amont, s'étendant de Saint-Christoly (PK 65) au bec d'Ambès, caractérisé par de nombreuses îles et barres sableuses formant des chenaux anastomosés ;
- l'estuaire aval, de Saint-Christoly à l'embouchure présente deux chenaux séparés par une ligne de bancs et de hauts-fonds.

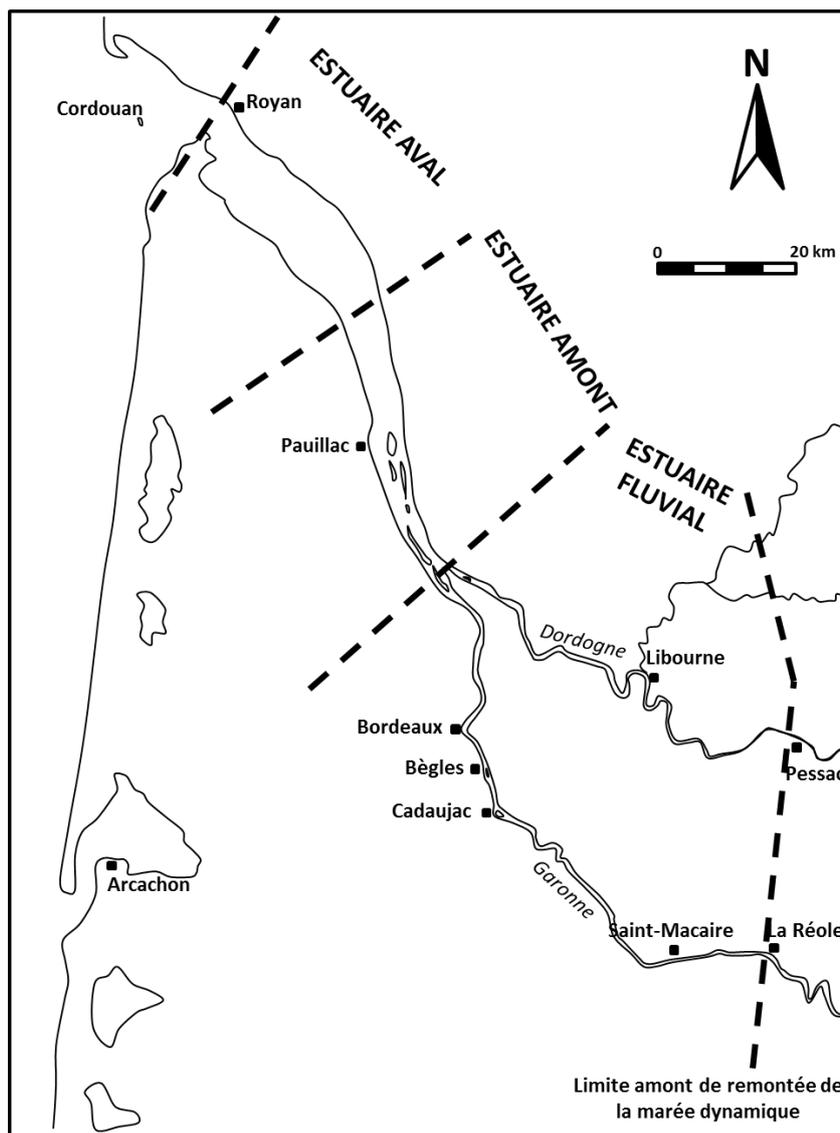


Figure 7. Carte de l'hydrosystème Garonne-Dordogne-Gironde.

Exception faite du chenal de navigation, la hauteur d'eau dans l'estuaire fluvial et l'estuaire amont est inférieure à 5 m en dessous du zéro marin. Dans le chenal de navigation, elle varie entre 7 et 10 m jusqu'au PK 81 puis augmente progressivement jusqu'à 34 m à l'embouchure (Allen, 1972). Les fonds sont vaseux dans les chenaux et sableux sur les barres dans les parties fluviales et amont de l'estuaire et uniquement sableux en aval du PK 78. On parle de sable quand plus de 80 % des particules ont une granulométrie supérieure à 63 μm et de vase quand plus de 80 % ont une granulométrie inférieure à 63 μm (Allen, 1972).

7.2 Bassin versant

Le bassin versant de la Garonne s'étend, du nord au sud, du Massif Central *via* le Lot jusqu'aux Pyrénées centrales, où la Garonne prend sa source. La population drainée par le bassin versant avoisine les 4 millions d'habitants (Agence de l'Eau Adour-Garonne, communication personnelle), les

deux principales communautés urbaines étant celles de Toulouse et de Bordeaux, avec plus de 700 000 habitants chacune.

Concernant la population de l'agglomération bordelaise, des travaux prospectifs conduits par l'IEDUB (Institut d'Etudes Démographiques de l'Université de Bordeaux) décrivent un scénario de forte croissance, dans lequel l'agglomération bordelaise atteint en 2035 une population d'environ 930 000 habitants. Cela correspond à une augmentation de plus de 220 000 habitants par rapport aux chiffres de 2008 et donc à une hausse de 32 % du volume d'eaux usées à traiter qui seront déversées *in fine* en Garonne.

7.3 Hydrologie de l'estuaire

La dynamique de l'estuaire est influencée par deux paramètres majeurs, la marée et le débit fluvial, qui gouvernent les courants.

La marée est semi-diurne, d'une période de 12h25. Le marnage moyen à l'embouchure (Pointe de Grave) atteint 3,40 m et la marée en période d'étiage se fait ressentir jusqu'à La Réole (Garonne) et Pessac-sur-Dordogne (Dordogne), soit à 160 km de l'embouchure. L'onde de marée est dissymétrique, à Bordeaux la marée montante durant 4 h contre 8h25 pour la marée descendante. A l'embouchure, le volume pénétrant dans l'estuaire à chaque flot oscille entre $1,1 \cdot 10^9$ et $2 \cdot 10^9$ m³ selon les coefficients de marée (Allen, 1972). Ce volume décroît vers l'amont, entre $2,9 \cdot 10^7$ et $5,2 \cdot 10^7$ m³ à Bordeaux. Le temps moyen de résidence des eaux, défini comme le temps nécessaire au renouvellement complet des eaux douces de l'estuaire, varie entre quelques jours et approximativement 86 jours (Jouanneau et Latouche, 1981). Il est calculé comme le rapport du volume moyen de l'estuaire sur le débit fluvial.

Les débits moyens de 1991 à 2012 sont de $537 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la Garonne et de $312 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ pour la Dordogne. L'évolution annuelle des moyennes mensuelles sur cette période est présentée Figure 8. Les débits sont maximaux en janvier, avec une moyenne de $872 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en Garonne et $555 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en Dordogne et minimaux en août, respectivement de 143 et $93 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. La Garonne et la Dordogne présentent un régime pluvio-nival, on observe à la fin du printemps une augmentation des débits moyens imputable à la fonte des neiges.

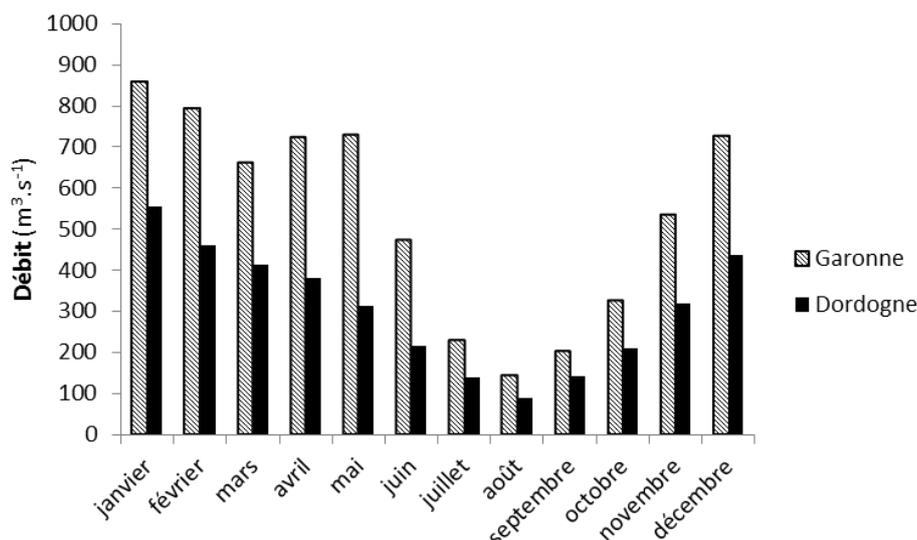


Figure 8. Débits mensuels moyens sur la Garonne et la Dordogne de 1991 à 2012. Origine des données : SPC Dordogne et DREAL Midi-Pyrénées / HYDRO-MEDD/DE.

Les débits extrêmes rencontrés de 1991 à 2012 sont présentés dans le Tableau 11.

Tableau 11. Débits mensuels extrêmes relevés sur la Garonne et la Dordogne de 1991 à 2012. Origine des données : SPC Dordogne et DREAL Midi-Pyrénées / HYDRO-MEDD/DE.

	Garonne		Dordogne	
	crue	étiage	crue	Etiage
Débit (m³.s⁻¹)	4720	45	3104	36
Date	25/01/09	31/08/98	08/01/94	09/08/98

L'examen des débits sur une longue période indique une évolution à la baisse. A titre d'exemple, les débits de la Garonne relevés à la station hydrométrique de Tonneins depuis 1959 (Figure 9) présentent une diminution moyenne de 200 m³.s⁻¹ en 50 ans, Dordogne comprise, la baisse atteint 300 m³.s⁻¹ (Etcheber *et al.*, 2013).

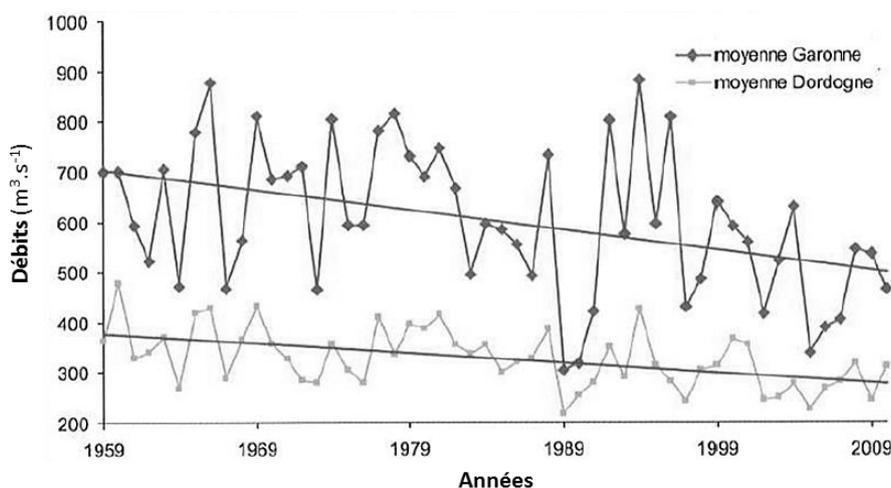


Figure 9. Débit moyen annuel de la Garonne à Tonneins et de la Dordogne à Pessac-sur-Dordogne de 1959 à 2009 (Etcheber *et al.*, 2013).

Cette évolution se traduit également par une diminution des débits d'étiage, la date d'entrée en étiage étant également de plus en plus précoce. Le nombre de jours où le débit mesuré est inférieur à $100 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ est également en augmentation (Etcheber *et al.*, 2013).

L'influence de la marée et des débits fluviaux sur les courants peuvent être comparés. Le courant dû à la marée est très variable, fonction du coefficient de marée et de la morphologie de l'estuaire : de $0,4$ et $0,8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ en moyenne et jusqu'à plus de $3 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ dans le chenal de navigation (Allen, 1972). Les courants fluviaux au Bec d'Ambès ont des vitesses de $0,075 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ pour le débit moyen de $537 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ et jusqu'à $0,7 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ pour $5000 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (cruce décennale), calculées d'après Allen (1972). La contribution des fleuves à la courantologie de l'estuaire est donc souvent mineure voire négligeable.

7.4 Intrusion haline et circulation résiduelle

La masse d'eau salée introduite par les courants de marée impose des différences de salinité suivant trois gradients (Allen, 1972). Le gradient longitudinal, décroissant de l'aval vers l'amont, marque l'étendue de l'intrusion haline. Le gradient vertical résulte de la densité plus élevée de la masse d'eau marine entrante et de la masse d'eau douce fluviale, cette stratification étant plus marquée en débit de crue. Le gradient transversal découle de l'intrusion préférentielle des eaux salées par la rive gauche.

La Gironde est définie comme un estuaire moyennement stratifié : on observe un mélange partiel des eaux douces superficielles et des eaux saumâtres du fond. Les courants résultants engendrés par ce mélange, déduction faite de la marée, sont appelés circulation résiduelle. Elle est dirigée vers l'aval dans la partie supérieure de l'écoulement et vers l'amont dans sa partie inférieure. La Figure 10 représente une coupe longitudinale théorique d'un estuaire partiellement mélangé et résume les processus hydrologiques y ayant lieu.

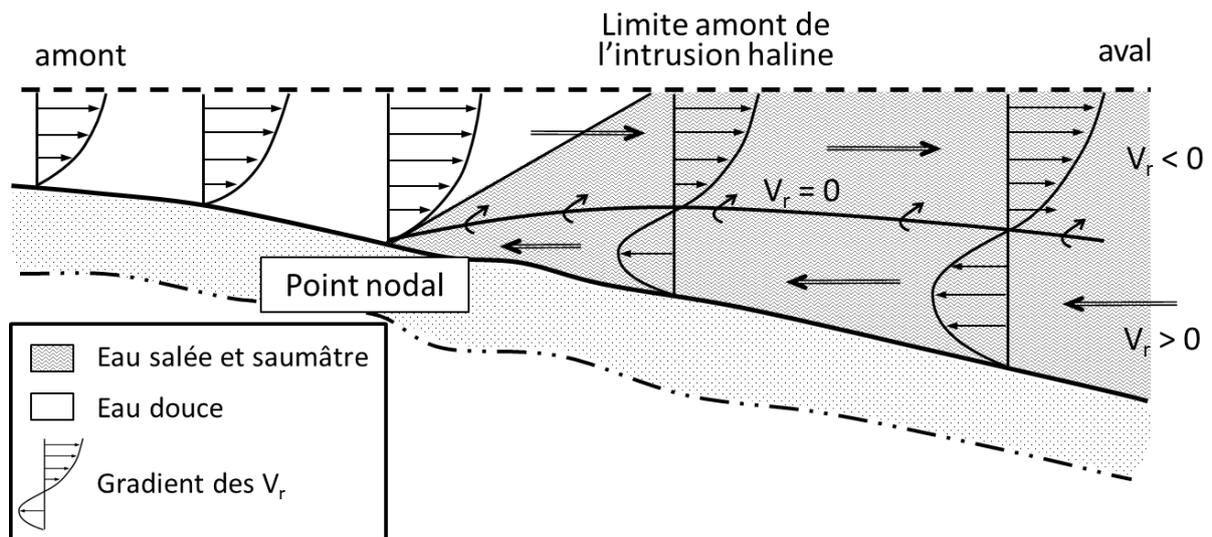


Figure 10. Représentation schématique des vitesses résultantes dans un estuaire partiellement mélangé (moyennement stratifié). V_r est la vitesse résiduelle (circulation résiduelle). Adapté de Allen (1972).

7.5 Processus sédimentaires

Les fleuves apportent de 1,5 à 3,0 mégatonnes par an de particules (Castaing *et al.*, 1984). Les contributions de la Garonne et de la Dordogne aux flux de particules à l'estuaire sont respectivement de 74 et 26 % (Schäfer *et al.*, 2002).

Dans l'estuaire, les processus hydrosédimentaires sont gouvernés par la circulation résiduelle. Les particules connaissent des cycles de transport au flot et au jusant et de dépôt à l'étalement. Au niveau du point nodal (Figure 10), l'inversion des courants de fond est à l'origine d'une concentration des particules. La Figure 11 résume la trajectoire d'une particule en suspension au cours de plusieurs cycles de marée. On observe la formation d'une zone de forte turbidité, dépendant des coefficients de marée et des débits fluviaux et appelée *bouchon vaseux*.

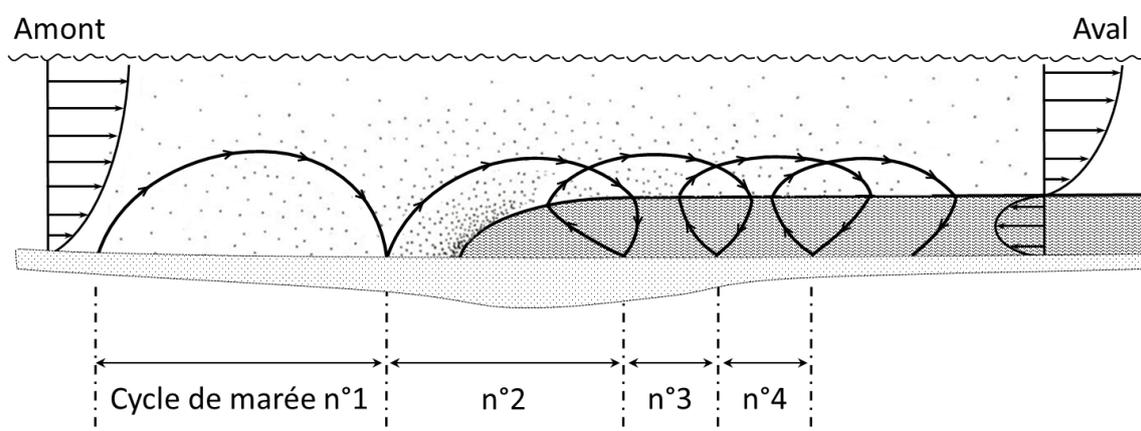


Figure 11. Trajectoire théorique d'une particule prise dans le bouchon vaseux au cours de plusieurs cycles de marée. Adapté de Allen (1972).

Les teneurs en matières en suspension (MES) dans le bouchon vaseux sont de l'ordre du gramme par litre en surface, et sont supérieures en profondeur. Au-delà de 10 g.L^{-1} , on parle de crème de vase. La position du bouchon vaseux varie selon deux cycles, l'un semi-diurne suivant la marée et l'autre annuel, en fonction des débits fluviaux. Le bouchon vaseux migre vers l'aval au jusant et vers l'amont au flot. Lors des crues, il se situe en aval et, en étiage, remonte vers l'amont en s'étendant géographiquement. Le bouchon vaseux ($\text{MES} \approx 1 - 10 \text{ g.L}^{-1}$) s'échelonne sur 60 km, entre le PK -20 et le PK 40 à pleine mer en période d'étiage, sa partie centrale se localisant à la limite amont de l'intrusion haline (Allen, 1972). Sottolichio et Castaing (1999) ont précisé la position du centre du bouchon vaseux et son extension en fonction du débit fluvial (Figure 12).

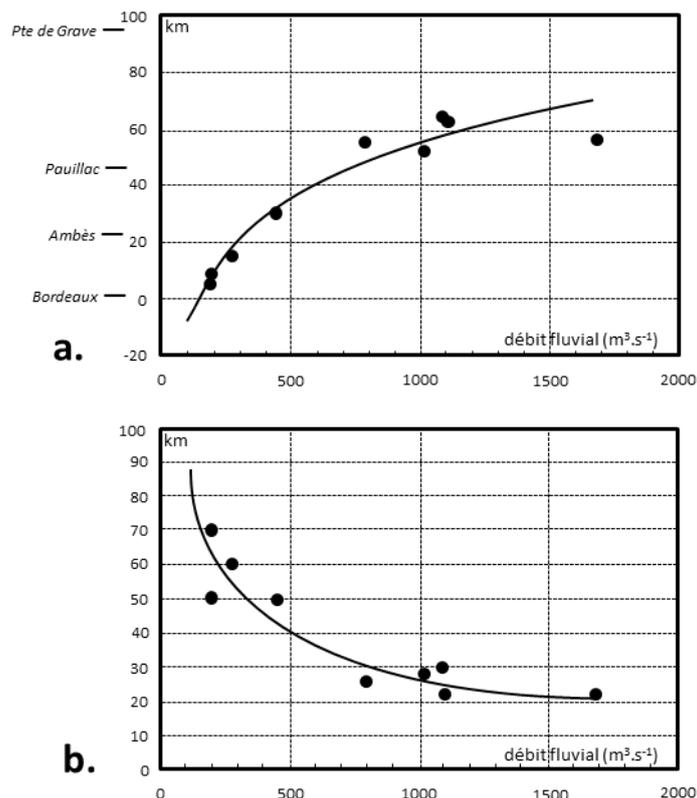


Figure 12. Caractéristiques du bouchon vaseux en fonction du débit fluvial : a. position du centre (en km en aval de Bordeaux) ; b. longueur en km. Adapté de Sottolichio et Castaing (1999).

Le bouchon vaseux contient 4 à 5 mégatonnes de sédiments en suspension, soit 1 à 2 ans d'apports fluviaux (Abril *et al.*, 1999). La comparaison au temps de séjour des eaux, inférieur à 86 jours, montre que le bouchon vaseux concentre et stocke les MES.

7.6 Descripteurs physico-chimiques

Le réseau d'observation automatisé Magest enregistre depuis 2004 la température, la salinité, la turbidité et l'oxygène dissous en surface à Pauillac, Bordeaux, Portets et Libourne à pas de temps réduit (10 min).

La turbidité (unité NTU) traduit la concentration en MES (rapport proche de 1 entre NTU et mg.L⁻¹, Maneux *et al.*, 2006). Elle décrit l'évolution du bouchon vaseux.

Au cours du cycle de marée, les maximums de turbidité se produisent à mi-jusant et dans une moindre mesure à mi-flot, car les courants plus intenses amplifient la remise en suspension des dépôts du fond. La turbidité peut être multipliée par 10 en 3 heures (Figure 13).

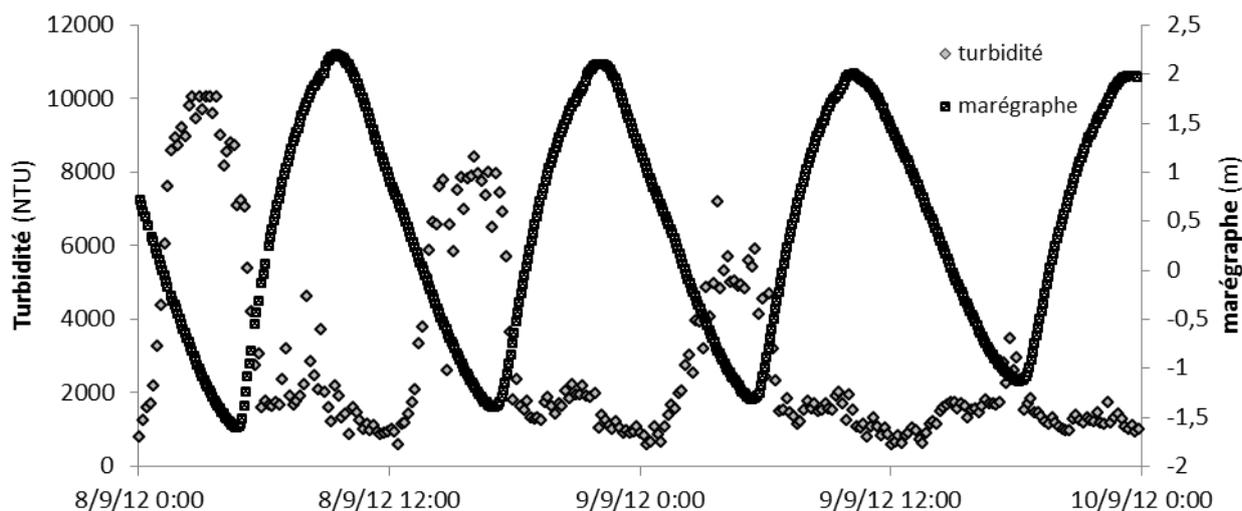


Figure 13. Turbidité et marégraphe enregistrés par la station Magest de Bordeaux du 08/09/12 0h00 au 10/09/12 0h00, soit près de 4 cycles de marée. Note : au-delà de 9 999 NTU la sonde est saturée.

Au cours du cycle annuel, la turbidité augmente significativement en été (Figure 14), quand les débits fluviaux sont faibles.

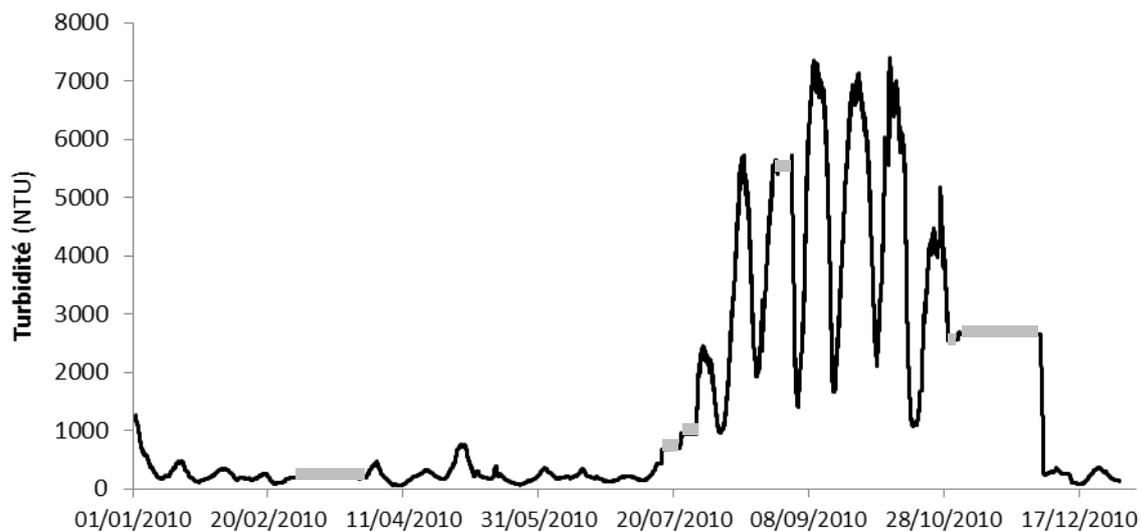


Figure 14. Turbidité journalière moyenne enregistrée à Bordeaux du 01/01/2010 au 31/12/2010. Les zones grisées correspondent à une absence de données. Noter la modulation engendrée par la variation du coefficient de marée.

La salinité renseigne sur la remontée des eaux océaniques vers l'amont et permet d'évaluer le taux de dilution des eaux fluviales par des eaux marines en un point donné.

Au cours du cycle de marée, la variation des salinités suit le jeu des courants de marée : maximum à pleine mer et minimum à basse mer. La Figure 15 présente la salinité aux 4 stations instrumentées par faible débit fluvial (Garonne $92 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$). Le décalage entre les maximums à Pauillac et Bordeaux ou Libourne correspond à la propagation de l'onde de marée.

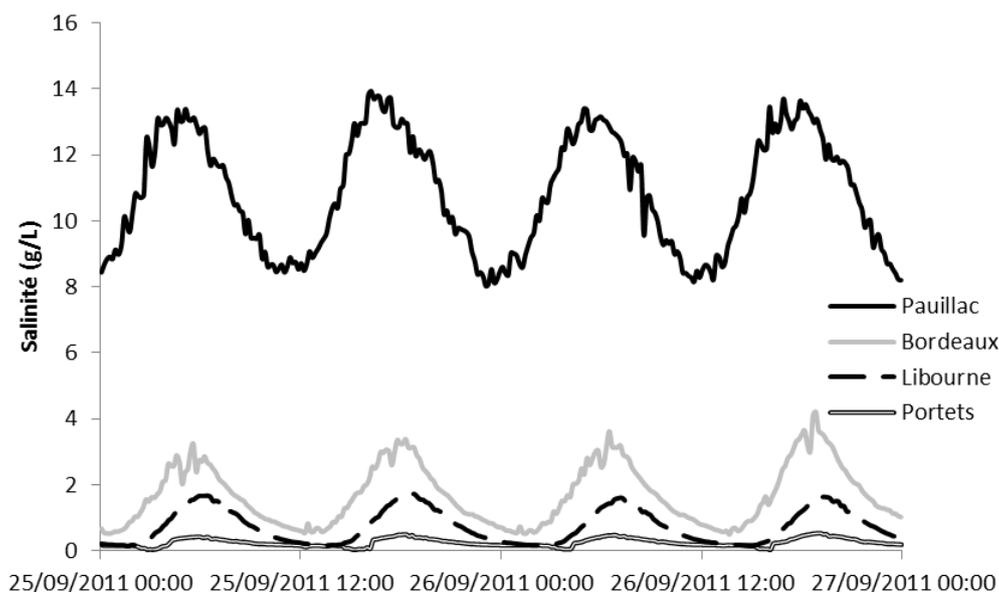


Figure 15. Salinité enregistrée aux stations Magest de Pauillac, Bordeaux, Libourne et Portets du 25/09/11 au 27/09/11.

Au cours du cycle annuel, le débit fluvial conditionne les variations de salinité de l'estuaire : augmentation en étiage et diminution en période de crue. Concernant l'évolution interannuelle de la salinité, Chaalali *et al.* (2013) ont montré une augmentation de + 2 psu au PK 52 en 30 ans, imputable à la diminution des débits fluviaux.

La température d'eau de surface de l'estuaire a varié de 1 °C à 24 °C en 2012 à Bordeaux. L'intrusion marine est responsable d'un apport d'eaux plus tempérées que les eaux fluviales : au cours d'un cycle de marée, la température au flot s'élève l'hiver et s'abaisse l'été. Néanmoins, l'amplitude de ce phénomène est faible, ≈ 1 °C (observations Magest 01/09/12 et 11/01/13).

Au cours d'un cycle annuel, la température de surface de l'eau est corrélée aux températures de l'air. A titre d'exemple, la vague de froid de février 2012 a provoqué une baisse des températures de l'eau à Bordeaux de plus de 7 °C.

L'examen de l'évolution de la température moyenne annuelle des eaux de fond montre une hausse moyenne de 2°C en 30 ans (Figure 16).

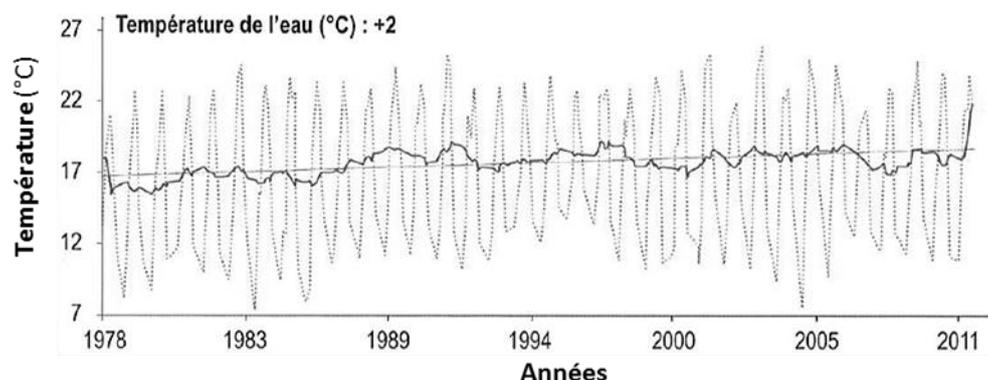


Figure 16. Evolution de la température moyenne annuelle des eaux de l'estuaire au PK 52 de 1978 à 2011 (Chaalali *et al.*, 2013).

L'oxygène dissous est un paramètre d'importance biologique. Pour des taux d'oxygène inférieurs à 30 %, on parle d'hypoxie. Pour des taux supérieurs, la sous-oxygénation, sans être létale, peut modifier le comportement des poissons et induire des phénomènes d'évitement (Lanceleur, 2011).

Le bouchon vaseux d'un estuaire constitue un réacteur naturel où la matière organique subit une minéralisation bactérienne intense, responsable d'une forte consommation d'oxygène, plus intense l'été en raison de l'augmentation des températures. Ainsi, on observe une relation négative entre la concentration en MES et le taux d'oxygénation. Le phénomène est particulièrement marqué à Bordeaux où l'apport d'effluents urbains, riches en matière organique labile, amplifie la consommation d'oxygène (Etcheber *et al.*, 2011). A Bordeaux, Portets et Libourne, les taux d'oxygénation sont compris entre 40 et 100 %. Exceptionnellement, des valeurs inférieures à 20 % peuvent être atteintes à Bordeaux, en période d'étiage, au jusant de faibles marées (Etcheber *et al.*, 2011). A Pauillac, au contraire, les eaux sont bien oxygénées (80-95 %) tout au long de l'année (Etcheber *et al.*, 2011).

7.7 Apports anthropiques à la Garonne estuarienne

7.7.1 Matière organique

La matière organique présente dans les effluents urbains de la ville de Bordeaux est peu renseignée. Néanmoins, il a été démontré que cette matière organique est très labile et qu'elle peut induire les fortes sous-oxygénation rencontrées localement dans l'estuaire (Etcheber *et al.*, 2011 ; thèse Aurélie Lanoux, 2013, programme ETIAGE).

7.7.2 Contaminants métalliques

Les contaminants métalliques ont fait l'objet de nombreuses études dans le système Garonne-Dordogne-Gironde (cadmium, cuivre, zinc, vanadium, cobalt, molybdène, plomb ; Schäfer *et al.*, 2009). A titre d'exemple, les cas du cadmium et de l'argent sont donnés ci-après. L'estuaire de la Gironde fait l'objet d'une contamination au cadmium reconnue depuis 1979 et originaire du site minier de Decazeville. Bien que l'exploitation du site soit arrêtée depuis 1986, la contamination persiste *via* les stocks importants de sédiments contaminés stockés tout au long du continuum Lot-Garonne-Gironde (Lanceleur, 2011). L'étude de l'argent dans l'estuaire de la Gironde a fait l'objet de travaux récents (Lanceleur, 2011). Les concentrations rencontrées en phase dissoute dans l'estuaire de la Gironde sont de l'ordre du nanogramme par litre. Le site minier de Decazeville a été, jusqu'à sa fermeture, un contributeur important à la contamination en argent de l'estuaire. Les rejets urbains des villes de Toulouse et Bordeaux sont également des sources non négligeables. L'argent est majoritairement transporté sous sa forme particulaire (96 ± 2 %) mais l'augmentation de salinité dans l'estuaire entraîne un relargage vers la phase dissoute.

7.7.3 Contaminants organiques

Les micropolluants organiques regroupent de nombreuses classes de molécules, certaines ayant déjà fait l'objet d'études dans la Gironde.

Des travaux sur la contamination de l'estuaire par les PCB et les PBDE (Tapie, 2006) ont révélé de faibles concentrations de la phase dissoute (de l'ordre du nanogramme par litre) et des concentrations en phase particulaire de l'ordre de la dizaine de nanogramme par gramme de poids sec. En revanche, le biote présente des niveaux de contamination notables (jusqu'à 220 ng.g⁻¹ poids sec pour les PCB dans les copépodes) et une contamination trophique de l'anguille jaune a pu être mise en évidence, avec des teneurs atteignant 650 ng.g⁻¹ ps pour les PCB et 28 ng.g⁻¹ ps en ce qui concerne les PBDE.

L'étude des HAP en phase dissoute à Pauillac, Libourne, Bordeaux et Cadaujac en 2010 par Abou Mrad (2011) a révélé une contamination de l'ordre de la dizaine de nanogramme par litre, avec les concentrations maximales relevées à Bordeaux et minimales relevées à Pauillac. La saisonnalité des contaminants a été mise en évidence avec des concentrations près de 2 fois supérieures à l'hiver 2010 par rapport à l'été 2009.

Les pesticides ont également fait l'objet de travaux de recherche (Belles, 2012). En revanche, les micropolluants présentés dans ces travaux de thèse, à savoir les médicaments et les filtres UV, sont peu ou pas documentés dans la Gironde, à l'exception des niveaux de concentration d'une sélection de médicaments (Togola, 2006).

7.8 Evolution du système estuarien Garonne-Dordogne-Gironde

Dans le contexte du changement climatique global et de la concentration des populations sur les centres urbains, l'hydrosystème Garonne-Dordogne-Gironde est en mutation (Le Treut *et al.*, 2013).

La remontée de l'intrusion haline avec des salinités plus élevées à Bordeaux est attendue. Pour des contaminants associés à la phase particulaire comme l'argent, un relargage vers la phase dissoute est à prévoir. La localisation du bouchon vaseux, plus à l'amont et plus longtemps au niveau de Bordeaux, accroît le risque de sous-oxygénation des eaux, d'autant plus que les flux de matière organique issue des effluents urbains augmenteraient suite à la hausse de la population bordelaise discutée section 7.2. Enfin, l'augmentation des températures peut accélérer les cinétiques de dégradation des contaminants et donc la génération de produits de transformation.

8 Cadre scientifique : Le programme Etiage

L'estuaire de la Gironde, dans sa partie aval, a fait l'objet de travaux de recherche depuis les années 1970 (Allen, 1972 ; Castaing *et al.*, 1984). Son fonctionnement hydrosédimentaire est désormais bien renseigné. De la même façon, les cycles biogéochimiques du cadmium, contaminant métallique emblématique à l'étude depuis la fin des années 1970, sont connus le long du gradient de salinité.

En revanche, l'estuaire, dans sa partie amont, est très peu étudié, bien qu'impacté par les effluents urbains de la ville de Bordeaux. Les premiers résultats du réseau Magest ont mis en évidence une sous-oxygénation des eaux de la Garonne au niveau de la ville de Bordeaux pouvant engendrer des phénomènes épisodiques d'anoxie et de blocages migratoires des populations biologiques (Etcheber *et al.*, 2011). La charge organique apportée par les effluents urbains est suspectée, par sa dégradation, de causer de fortes consommations d'oxygène. Par ailleurs, les effluents urbains sont reconnus comme vecteurs de micropolluants organiques tels que les médicaments ou de contaminants métalliques (exemple de l'argent, Lanceleur, 2011). Les cortèges biologiques dans la partie de l'estuaire fluvial sous influence des rejets urbains de l'agglomération bordelaise sont peu renseignés et la question des incidences des effluents sur les comportements des populations biologiques se pose.

Dans ce cadre, le programme ETIAGE, pour ETude Intégrée de l'effet des Apports amont et locaux sur le fonctionnement de la Garonne Estuarienne, a été monté en 2010. ETIAGE est soutenu par la Communauté Urbaine de Bordeaux (CUB), la Lyonnaise des Eaux, l'Agence de l'Eau Adour-Garonne et le Fonds européen de développement régional (FEDER). Ce programme pluriannuel sur quatre années vise à :

- 1- qualifier les apports des effluents de la Communauté Urbaine de Bordeaux par rapport à ceux venant de l'amont en termes de charge organique et de micropolluants,
- 2- évaluer le rôle du bouchon vaseux et de la stagnation résiduelle des eaux au niveau de l'estuaire fluvial en période d'étiage sur le devenir des effluents,
- 3- évaluer l'extension de l'impact des effluents sur la qualité des eaux de la Garonne,
- 4- caractériser les populations biologiques de l'estuaire amont et les incidences des effluents sur leur comportement,
- 5- dresser des tendances évolutives et des recommandations de gestion à partir de la synthèse des pressions exercées sur les eaux de la Garonne estuarienne.

Afin de répondre à ces questions, le programme se découpe en 4 axes thématiques et une synthèse :

- Axe 1 : caractérisation des apports organiques et de leur rôle sur l'oxygénation des eaux de la Garonne estuarienne. Axe porté par Henri Etcheber dans l'équipe Ecobioc d'EPOC.
- Axe 2 : caractérisation et flux des contaminants (classiques et émergents) dans les eaux de la Garonne estuarienne. Axe porté par Hélène Budzinski dans l'équipe LPTC d'EPOC.
- Axe 3 : étude des apports métalliques dans les eaux de la section garonnaise de l'estuaire de la Gironde. Axe porté par Gérard Blanc dans l'équipe TGM d'EPOC.
- Axe 4 : approche de l'impact des conditions physico-chimiques affectant la masse d'eau estuarienne garonnaise sur les cortèges biologiques. Axe porté conjointement par Mario Lepage (IRSTEA), Benoit Sautour (EPOC-Ecobioc) et Magalie Baudrimont (EPOC-EA).
- Axe 5 de synthèse et de recommandations de gestion

Les travaux présentés dans cette thèse s'incluent dans l'axe 2 qui se subdivise en 5 actions :

- Action 1 : Détermination des contaminants organiques (y compris les contaminants émergents dont les substances pharmaceutiques) dans les effluents de la CUB arrivant en Gironde.
- Action 2 : Etude du comportement de ces composés dans le bouchon vaseux.
- Action 3 : Approche expérimentale des flux et développement de capteurs passifs.
- Action 4 : Comparaisons avec d'autres systèmes estuariens.
- Action 5 : Etude du transfert vers les organismes – Risque écotoxicologique.

Plus spécifiquement, ces travaux se focalisent sur une sélection de contaminants émergents, à savoir 53 médicaments et 6 filtres UV. Les résultats présentés s'incluront dans les actions 1 à 3 de l'axe 2 du programme Etiage.

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

1	Description des sites étudiés et échantillonnage associé	87
1.1	Les stations d'épuration bordelaises.....	87
1.1.1	Description des sites.....	87
1.1.2	Méthodologie d'échantillonnage	93
1.2	La Gironde	97
1.2.1	Description des points de prélèvement	97
1.2.2	Méthodologie d'échantillonnage	99
1.3	Le site spécifique de la Jalle de Blanquefort	100
1.3.1	Description des sites.....	100
1.3.2	Méthodologie d'échantillonnage	101
2	L'étude spécifique par échantillonneur passif	101
2.1	Intérêt de leur utilisation dans l'hydrosystème de la Gironde.....	101
2.2	Principe de fonctionnement.....	102
2.3	Montage préalable des échantillonneurs.....	104
2.4	Méthodologie de calibration des POCIS.....	104
3	Préparation des échantillons	107
3.1	Origine des consommables	107
3.2	Extraction des eaux	107
3.2.1	Filtration	107
3.2.2	Extraction sur phase solide.....	108
3.2.3	Protocole de déconjugaison	112
3.3	Extraction des matrices solides	112
3.4	Extraction de la phase réceptrice des échantillonneurs passifs (POCIS).....	114
4	Analyse par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse	114
4.1	Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) triple quadropôle	114
4.1.1	Instrument analytique	114
4.1.2	Médicaments en mode d'ionisation positif.....	115

4.1.3	Médicaments en mode d'ionisation négatif	116
4.1.4	Filtres UV	116
4.2	Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse hybride quadripôle/temps de vol.....	116
4.2.1	Méthode d'analyse non ciblée	117
4.2.2	Retraitement des données	117
5	Expression des résultats	118
5.1	Quantification par dilution isotopique	118
5.2	Validation des résultats	120
6	Expériences de dégradation <i>in-vitro</i>.....	121

1 Description des sites étudiés et échantillonnage associé

1.1 Les stations d'épuration bordelaises

1.1.1 Description des sites

a) Le réseau d'assainissement de la CUB

Le service d'assainissement collectif de la Communauté urbaine de Bordeaux (CUB) dessert la totalité des 27 communes communautaires soit 722 000 habitants (CUB, 2011). Le réseau est organisé en 6 bassins de collecte associés chacun à une station d'épuration (STEP). Les stations d'épuration, leur commune d'implantation ainsi que la capacité nominale en équivalents-habitants (EH) de chacune sont détaillées dans le Tableau 12.

Tableau 12. Liste des stations d'épuration de la Communauté Urbaine de Bordeaux.

Station	Commune	Capacité (EH)	Pourcentage des capacités de la CUB
Clos De Hilde	Bègles	408 000	42
Louis Fargue	Bordeaux	300 000	31
Sabarèges	Ambarès	117 000	12
Cantinolle	Eysines	85 000	9
Lille	Blanquefort	67 000	7
Ambès CD 10	Ambès	3 000	0,3

L'étude d'impact des effluents urbains de la CUB sur la Garonne estuarienne se limitera aux deux stations d'épuration Clos de Hilde et Louis Fargue puisqu'elles regroupent les trois quarts des capacités d'assainissement de la CUB et se rejettent directement dans la Garonne, contrairement à Sabarèges, Cantinolle et Ambès pour lesquelles les effluents traités transitent par le Guâ, la Jalle de Blanquefort et la Dordogne, respectivement.

Le réseau de collecte, de 3 952 km au total, comporte des parties unitaires (qui reçoivent des eaux usées domestiques et des eaux pluviales) et des parties séparatives. Les linéaires de réseau atteignent 781 km pour les réseaux unitaires, 1 786 km pour les réseaux séparatifs (eaux usées) et 1 385 km pour les réseaux d'eaux pluviales.

b) La station d'épuration Clos de Hilde

Réseau

La population raccordée à la station Clos de Hilde est estimée en 2010 à 264 600 habitants (estimation Lyonnaise à partir du recensement INSEE de 1999). Les communes raccordées à la station Clos de Hilde sont recensées dans le Tableau 13.

Tableau 13. Communes raccordées à la station Clos de Hilde.

Commune	Pourcentage d'habitants raccordés
Bègles	100
Bordeaux	6
Bouliac	59
Cenon	15
Gradignan	92
Floirac	82
Pessac	66
Talence	83
Villenave d'Ornon	100

Le réseau de collecte de Clos de Hilde totalise 854 km, à 87 % séparatif et 13 % unitaire. La liste des industriels raccordés comprend plusieurs hôpitaux et cliniques : le centre Xavier Arnozan, la clinique Béthanie, la clinique chirurgicale Mutualiste, la clinique Saint-Martin et les hôpitaux Haut-Lévêque et Robert Picqué.

Bien que le réseau de collecte de la station d'épuration Clos de Hilde soit essentiellement séparatif, une proportion non négligeable d'eaux claires (eaux généralement très peu polluées) pénètre dans le réseau par tous temps. Il peut s'agir d'infiltrations depuis les nappes phréatiques ou de ruisseaux canalisés dans les égouts. Ces eaux sont appelées Eaux Claires Parasites Permanentes (ECP) en opposition aux Eaux Claires Parasites Météoriques (ECPM), dues aux intrusions d'eaux pluviales. La Figure 17 précise la répartition par mois en 2011 des eaux arrivant en station de Clos de Hilde. La somme des eaux claires peut dépasser 50 % du volume total arrivant en station d'épuration et diluer ainsi les eaux usées résiduelles dénommées EU strictes.

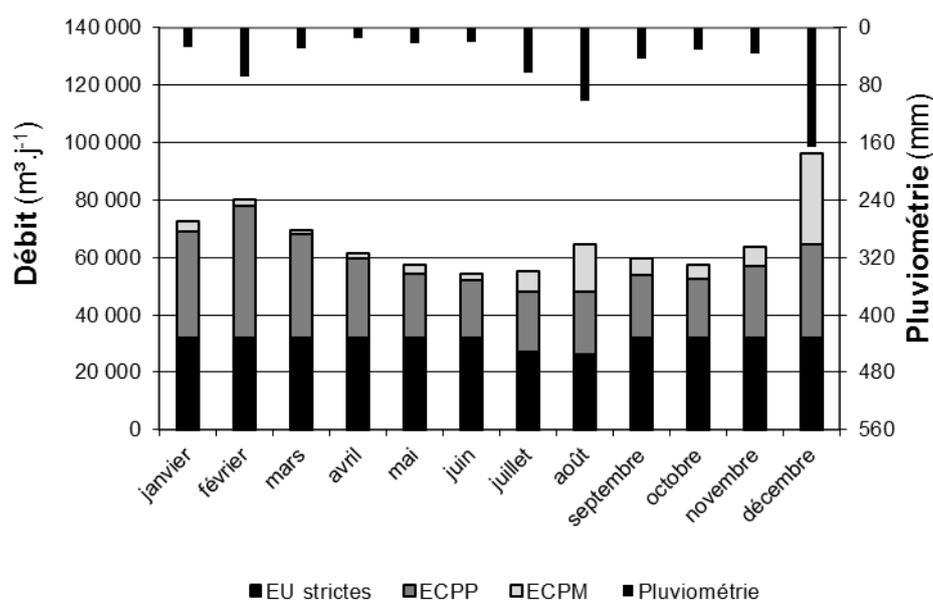


Figure 17. Evolution annuelle de la provenance des eaux brutes rentrant en station d'épuration de Clos de Hilde. Données Lyonnaise des Eaux, 2011. EU : eaux usées strictes, ECPP : eaux claires parasites permanentes, ECPM : eaux claires parasites météoriques.

Procédés de traitement

Le synoptique des procédés et des points de prélèvement de la station Clos de Hilde est donné en Annexe 1. L'effluent brut subit dans un premier temps un dégrillage à 50 puis 16 mm suivi d'un dessablage/dégraissage qui permet de retirer les particules denses qui décantent et les graisses qui surnagent. L'effluent est ensuite réparti sur deux filières aux procédés identiques, appelées 1 et 2. L'effluent traverse les décanteurs lamellaires qui éliminent la majeure partie des matières en suspension. La décantation est favorisée par l'ajout préalable de chlorure ferrique et de polymère anionique (copolymère d'acrylamide et d'acide acrylique). L'effluent, débarrassé de l'essentiel de sa charge particulaire, est soumis au traitement secondaire sur filtres biologiques garnis d'un support filtrant composé de billes d'argile expansées. Les effluents des filières 1 et 2 se rejoignent alors avant d'être rejetés en Garonne.

Le temps de résidence dans la station d'épuration varie selon les débits : d'une quarantaine de minutes aux débits maximums à approximativement 4 h pour de faibles débits.

Le débit moyen observé par temps sec en 2011 en sortie de station d'épuration est de $54\,300\text{ m}^3\cdot\text{j}^{-1}$, soit $0,6\text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$ (d'après données d'autosurveillance des STEP, Lyonnaise des Eaux). Le rejet en Garonne est localisé sur la rive gauche, au niveau de l'île d'Arcins (Figure 18).

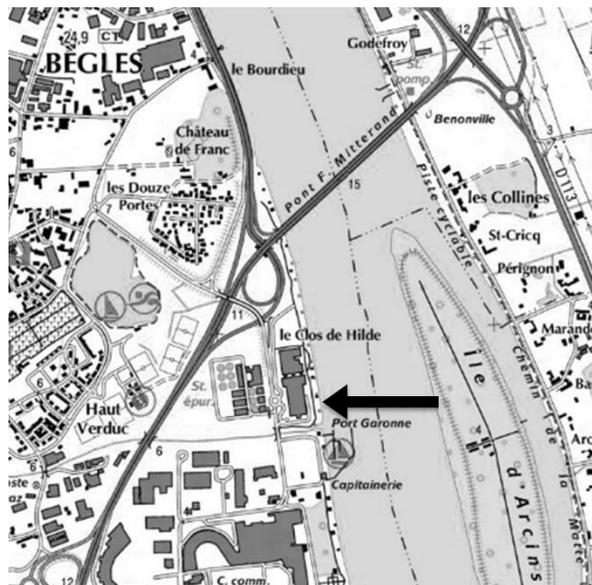


Figure 18. Localisation du point de rejet de la station d'épuration Clos de Hilde (flèche noire).

Les concentrations en matières en suspension (MES), demande chimique en oxygène (DCO) et azote ammoniacal sont données pour l'entrée et la sortie de la STEP dans le Tableau 14.

Tableau 14. Concentrations moyennes en paramètres classiques mesurées en mars, avril et mai 2011 à la station d'épuration Clos de Hilde. MES : Matières en Suspension, DCO : Demande Chimique en Oxygène, N-NH₄ : azote ammoniacal. D'après données d'autosurveillance des STEP, Lyonnaise des Eaux.

	MES mg.L ⁻¹	DCO mg.L ⁻¹	N-NH ₄ mg.L ⁻¹
Effluent d'entrée	250 ± 50	510 ± 110	43 ± 7
Effluent de sortie	6 ± 3	52 ± 9	30 ± 5

Avec des concentrations en azote ammoniacal équivalentes entre l'effluent d'entrée et de sortie, il ressort que la STEP n'est pas prévue pour le traitement de l'azote.

c) La station d'épuration Louis Fargue (avant réhabilitation – décembre 2011)

Réseau

La population raccordée estimée est de 305 814 habitants (estimation Lyonnaise des Eaux à partir du recensement INSEE de 1999). Les communes raccordées à la station Louis Fargue sont recensées dans le Tableau 15.

Tableau 15. Communes raccordées à la station Louis Fargue.

Commune	Pourcentage de la zone concernée par l'assainissement
Bordeaux	76
Bruges	66
Eysines	53
Le Bouscat	100
Mérignac	95
Pessac	7
Talence	17

Le réseau de collecte de la station Louis Fargue totalise 928 km à 60 % unitaire et 40 % séparatif. Le réseau de collecte est donc plus sujet à la pluviométrie que le réseau de collecte de la station Clos de Hilde. La station Louis Fargue reçoit les effluents de 18 hôpitaux et cliniques et en particulier l'hôpital Pellegrin, le plus important des sites du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Bordeaux.

La station d'épuration Louis Fargue reçoit également une proportion importante d'eaux claires. La Figure 19 détaille la provenance des eaux par mois. En 2011, les volumes entrant en STEP étaient à 34 % des eaux usées strictes, à 26 % des ECPM et à 40 % des ECPP.

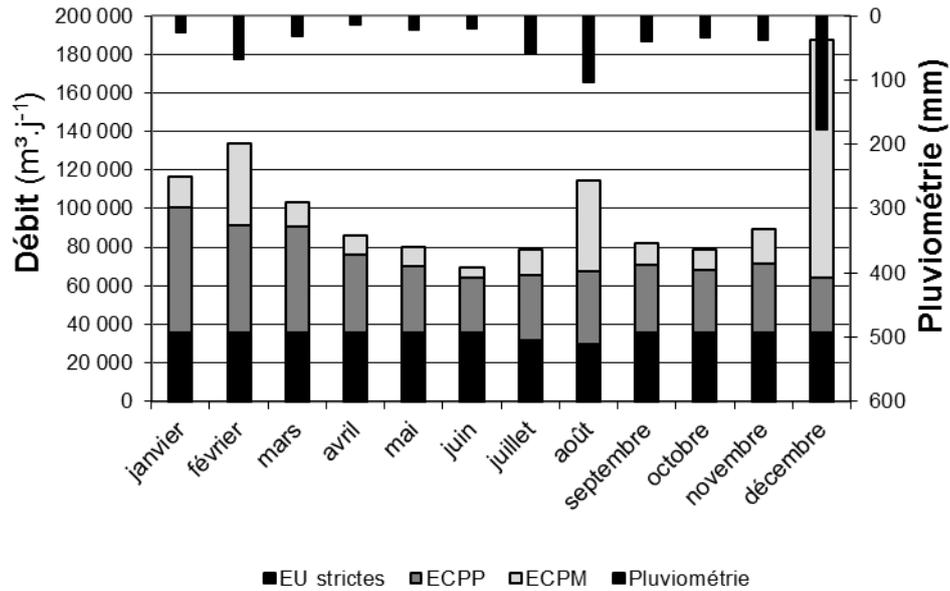


Figure 19. Evolution annuelle de la provenance des eaux brutes rentrant en station d'épuration de Louis Fargue. Données Lyonnaise des Eaux, 2011. EU : eaux usées strictes, ECPP : eaux claires parasites permanentes, ECPM : eaux claires parasites météoriques.

Procédés de traitement

Le synoptique des traitements de la station Louis Fargue est donné en Annexe 1. Le traitement primaire consiste en un dégrillage à 40 puis 18 mm suivi d'un dessablage/dégraissage. Après ajout de chlorure ferrique et d'un polymère anionique (copolymère d'acrylamide et d'acide acrylique) pour faciliter la décantation, l'effluent traverse 3 décanteurs physico-chimiques. Compte tenu des capacités du traitement biologique qui suit, seulement 66 % (moyenne temps sec 2011, d'après données d'autosurveillance des STEP, Lyonnaise des Eaux) du débit est envoyé vers un traitement à boues activées forte charge dans 6 blocs rapides. Les 34 % restants sont directement bypassés vers le rejet en Garonne. Lorsque les débits d'entrée de station d'épuration augmentent, comme en cas d'événement pluvieux, la proportion d'effluent bypassé augmente, provoquant un effluent de sortie moyen pouvant être composé à 69 % d'effluent uniquement décanté (données décembre 2011, autosurveillance des STEP, Lyonnaise des Eaux).

Le débit moyen calculé par temps sec en 2011 est de $72\,200\text{ m}^3.\text{j}^{-1}$, soit $0,8\text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ (données d'autosurveillance des STEP, Lyonnaise des Eaux). Le rejet en Garonne est localisé en rive gauche (Figure 20)

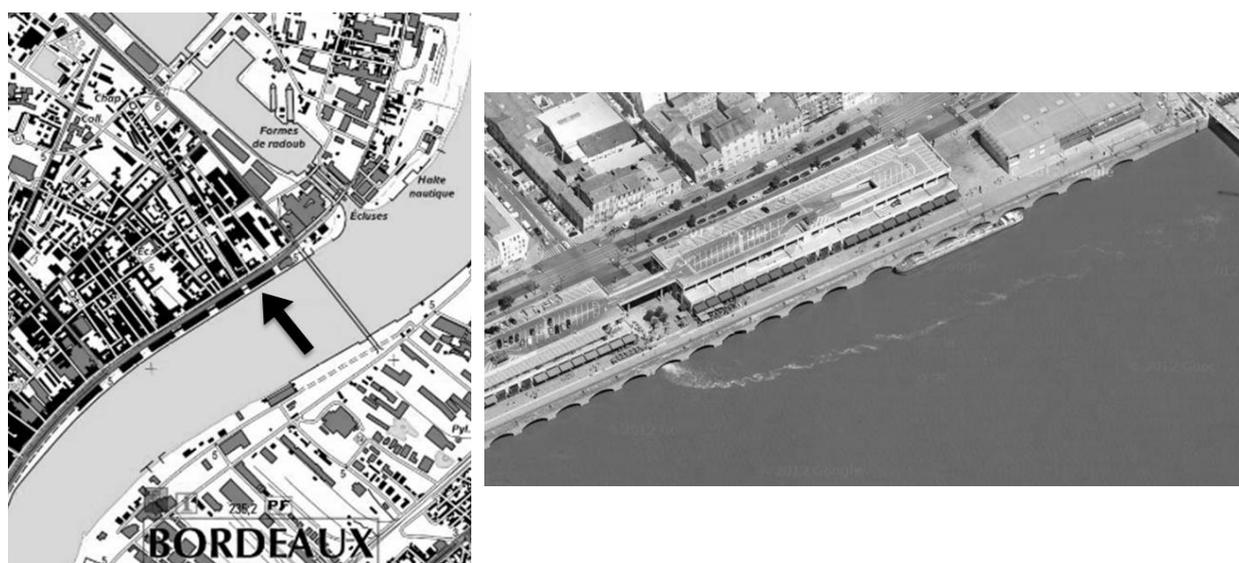


Figure 20. Localisation du point de rejet de la station d'épuration Louis Fargue (flèche noire) et photographie aérienne du rejet au jusant.

Les concentrations en matières en suspension (MES), demande chimique en oxygène (DCO) et azote ammoniacal sont données pour l'entrée, la sortie générale et la sortie des boues activées dans le Tableau 16.

Tableau 16. Concentrations moyennes en paramètres classiques mesurées en mars, avril et mai 2011 à la station d'épuration Louis Fargue. MES : Matières en Suspension, DCO : Demande Chimique en Oxygène, N-NH₄ : azote ammoniacal. D'après données d'autosurveillance des STEP, Lyonnaise des Eaux.

	MES mg.L ⁻¹	DCO mg.L ⁻¹	N-NH ₄ mg.L ⁻¹
Effluent d'entrée	220 ± 50	430 ± 70	34 ± 6
Effluent de sortie générale	31 ± 14	120 ± 20	34 ± 6
Effluent de sortie boues activées	24 ± 20	80 ± 30	33 ± 6

Tout comme la STEP Clos de Hilde, au traitement biologique différent, la STEP Louis Fargue n'est pas prévue pour le traitement de l'azote.

d) La station d'épuration Louis Fargue après réhabilitation (décembre 2011)

La station d'épuration Louis Fargue a subi d'importants changements de ses procédés de traitement au cours de cette étude, la nouvelle station d'épuration étant progressivement entrée en service à partir de décembre 2011. Il est à noter que le réseau de collecte est resté inchangé.

Procédés de traitement

Le synoptique des traitements de la nouvelle station Louis Fargue est donné en Annexe 1. Un bassin tampon d'un volume de 22 000 m³ permet de stocker les eaux brutes si le débit d'entrée de la station est supérieur à ses capacités maximales. Cette installation permet de limiter voire d'éviter les rejets

d'eaux brutes en Garonne. Le prétraitement est resté inchangé. Les décanteurs à ciel ouvert physico-chimiques ont été remplacés par des décanteurs lamellaires. Le traitement biologique par boues activées forte charge est remplacé par un traitement par biofiltration. Dans cette configuration, sauf incident, il n'y a plus de bypass systématique du traitement biologique. Ainsi l'ensemble du traitement est devenu similaire à celui de la station Clos de Hilde.

1.1.2 Méthodologie d'échantillonnage

a) Type de prélèvement

L'objectif de ce travail est de caractériser à la fois l'effluent d'entrée, l'effluent rejeté au milieu naturel (dit effluent de sortie générale par les exploitants) et les performances de la station d'épuration suivant une variabilité inter-journalière et annuelle. L'échantillonnage doit donc permettre d'associer une masse d'eau entrant à une masse sortant en minimisant le biais dû aux temps de résidence.

La Figure 21 représente les types de prélèvements envisageables et leur représentativité d'après Ort *et al.* (2010c). Les auteurs recommandent pour l'analyse de systèmes d'eaux usées un prélèvement automatique moyenné 24 h asservi au débit. Cette méthode est la plus représentative et minimise le risque de non-échantillonnage d'un composé qui serait émis brièvement et à forte concentration. Le choix s'est donc porté sur ce type de prélèvement.

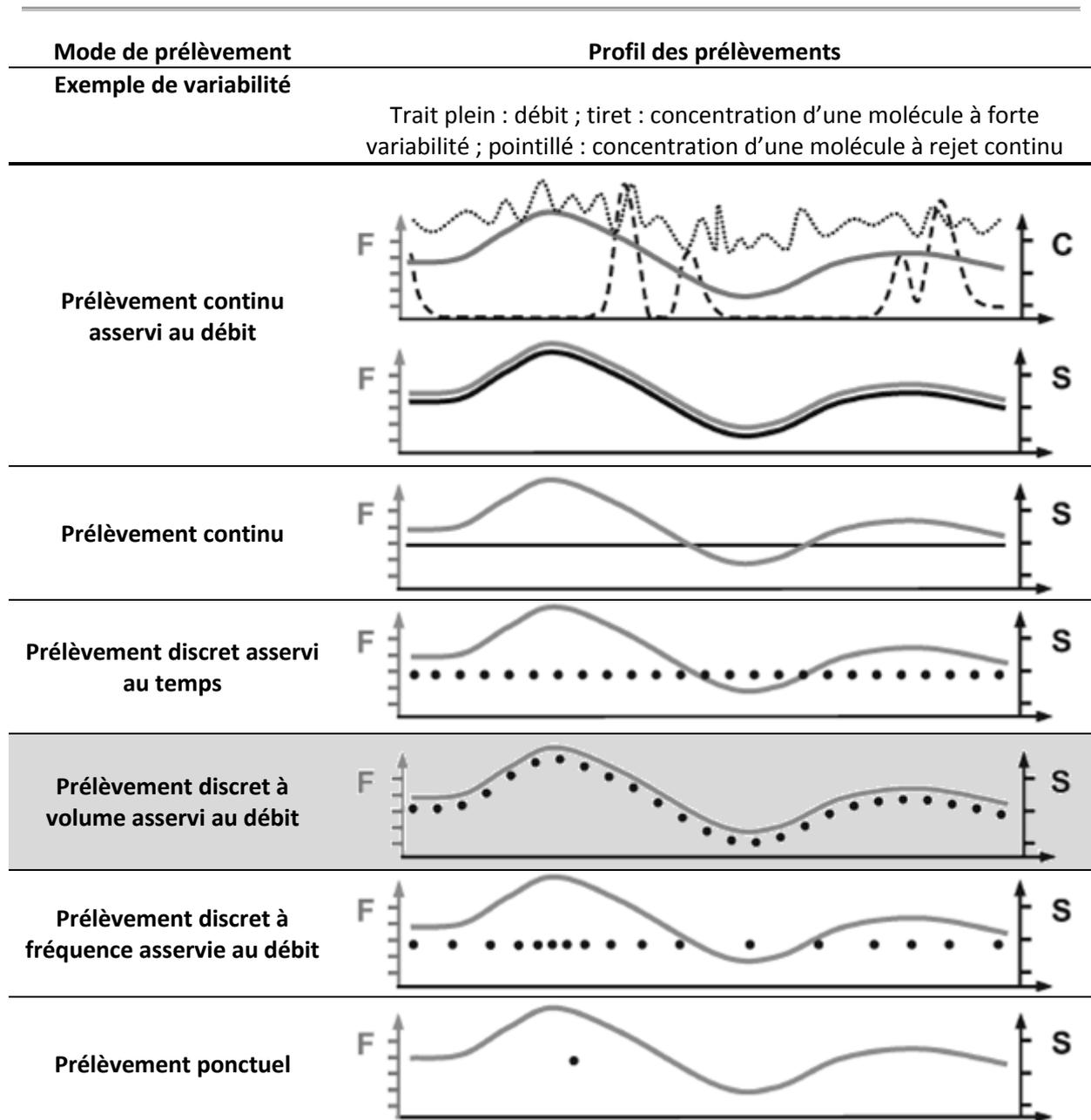


Figure 21. Profil des prélèvements au cours du temps en fonction du mode d'échantillonnage. F : débit du système à échantillonner, S : volume prélevé. D'après Ort *et al.* (2010c).

Le matériel utilisé est celui d'autosurveillance des stations d'épuration. Ce matériel est donc tracé et contrôlé par les exploitants et spécifique au point de prélèvement afin d'éviter des contaminations croisées. Les préleveurs automatiques sont de marque Endress et Hauser, modèle ASP Station 2000.

b) Points de prélèvements

La localisation des préleveurs est précisée sur les synoptiques donnés en Annexe 1. Le Tableau 17 liste les 6 points de prélèvement à l'étude.

Tableau 17. Description des points de prélèvement des stations d'épuration de l'étude.

STEP	Description	Code échantillon
Clos de Hilde	Eau brute	CHE
	Eau traitée 1	CHET1
	Eau traitée 2	CHET2
Louis Fargue	Eau brute	LFE
	Eau décantée	LFED
	Eau traitée bio.	LFET

Remarque : après réhabilitation, l'eau décantée après traitement primaire n'a pas été prélevée puisque, sauf incident technique, elle n'est plus jamais bypassée vers la Garonne.

c) Prétraitement analytique des échantillons

L'échantillon prélevé automatiquement est collecté dans un bidon de 10 L en polyéthylène haute densité (PEHD) contenu dans une enceinte réfrigérée réglée à 4 °C. Le prélèvement moyen courant de 8 h à 8 h le lendemain, il est ensuite homogénéisé et échantillonné dans un flacon en PEHD (Nalgene) de 500 mL et transporté au laboratoire dans un délai maximum de 4 h. A leur arrivée au laboratoire, les échantillons sont filtrés puis congelés selon le protocole décrit en section 3.2.1 de ce chapitre. Seule la phase dissoute est conservée pour les analyses. Le prélèvement et la filtration ont fait l'objet de validation, présentés dans le chapitre 3.1, section 1.5.

d) Fréquence d'échantillonnage

Afin de minimiser les variabilités, les échantillons moyennés 24 h ont été récupérés sur trois jours consécutifs comme préconisé par Ort *et al.* (2010c), puis analysés indépendamment et enfin, sauf cas particulier et pour des conditions pluviométriques équivalentes, considérés comme un triplicat représentatif du mois de prélèvement.

Les trois jours d'échantillonnage sont les premiers lundi, mardi et mercredi du mois, de février 2011 à janvier 2012, à l'exception du mois d'avril.

Au total, 168 échantillons ont été collectés, à raison de 33 échantillons pour CHE, LFE, LFET et CHET2, 30 échantillons pour LFED et 6 échantillons pour CHET1.

e) Echantillonnage spécifique pour filtres UV

En raison de leur propriétés hydrophobes, les filtres UV nécessitent un prélèvement spécifique, différent de celui adapté aux médicaments. En effet, le plastique du contenant adsorbe les filtres UV et provoque une perte pouvant atteindre 95 % de la quantité initiale (Figure 22).

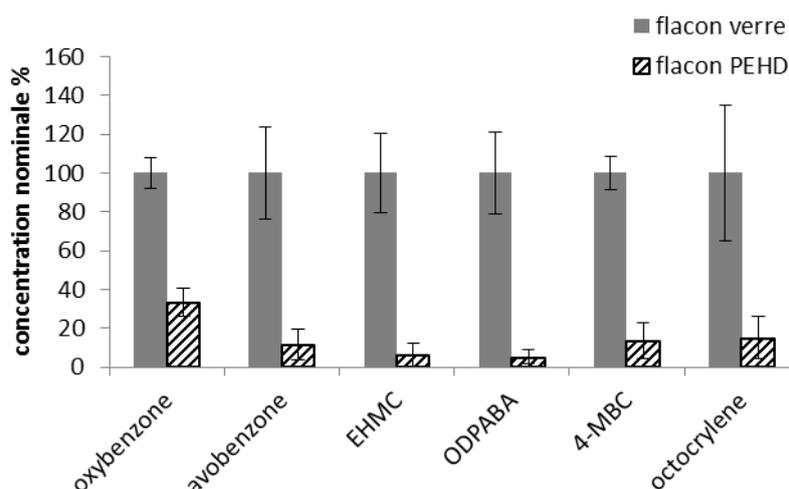


Figure 22. Perte des filtres UV dans un contenant en PEHD par rapport à un contenant en verre borosilicaté (n=3). Quantification par étalonnage externe d'une eau de rivière enrichie en filtres UV à $\approx 200 \text{ ng.L}^{-1}$ et répartie en flacons de 100 mL en PEHD et en verre. Après agitation pendant 1 h, les échantillons sont extraits selon le protocole décrit en section 3.2.2 de ce chapitre.

De ce fait, le préleveur automatique avec sa tuyauterie en plastique et le bidon en PEHD pouvant contenir l'échantillon jusqu'à 24 h n'est pas adapté. La méthodologie employée consiste donc en un prélèvement ponctuel en flacon en verre borosilicaté réalisé chaque jour, à la même heure ($10 \text{ h} \pm 1 \text{ h}$).

Pour les filtres UV, l'échantillonnage n'a concerné que la station d'épuration Clos de Hilde (eau brute et eau traitée filière 2). Le prélèvement a été réalisé trois jours consécutifs du mardi au jeudi une fois par mois, du 26/06/12 au 06/12/12 (soit 15 couples entrée/sortie).

f) Conditions d'échantillonnage

La nature des échantillons pouvant varier en fonction de la pluviométrie et des débits, il importe de renseigner ces paramètres pouvant aider à l'interprétation des concentrations (Tableau 18). Au-delà de 0,6 mm de pluie par jour, l'exploitant considère qu'il s'agit d'un temps de pluie. Les conditions de prélèvement associées à chaque échantillon individuel sont précisées dans l'Annexe 2.

Tableau 18. Synthèse des débits et de la pluviométrie observés lors des prélèvements. Moyenne des conditions observées sur les trois jours échantillonnés. Le choix de représentativité est détaillé ci-après.

		Fév	Mars	Mai	Déb juin	Fin juin	Août	Sep	Oct	Nov	Déc	Jan
Débit $\text{m}^3.\text{j}^{-1}$	CHE	65197	67331	58118	62153	51067	61527	56943	53768	59881	87028	86635
	LFE	86481	89929	74285	91727	63691	126233	69643	67944	79572	183496	131107
Pluvio. $\text{mm}.\text{j}^{-1}$	CHE	0,2	0,0	0,0	3,3	0,2	11,6	1,3	0,1	0,1	9,0	4,6
	LFE	0,2	0,0	0,1	3,2	0,1	14,4	1,3	0,0	0,0	10,5	3,5
Représentativité		sec	sec	sec	Inter.	sec	Cas particulier	Inter.	sec	sec	pluie	pluie

L'examen des débits en entrée de STEP (Figure 23) montre que seules les campagnes d'août, décembre et janvier se sont déroulées pour un débit d'entrée significativement plus élevé que la moyenne (en particulier à la STEP Louis Fargue).

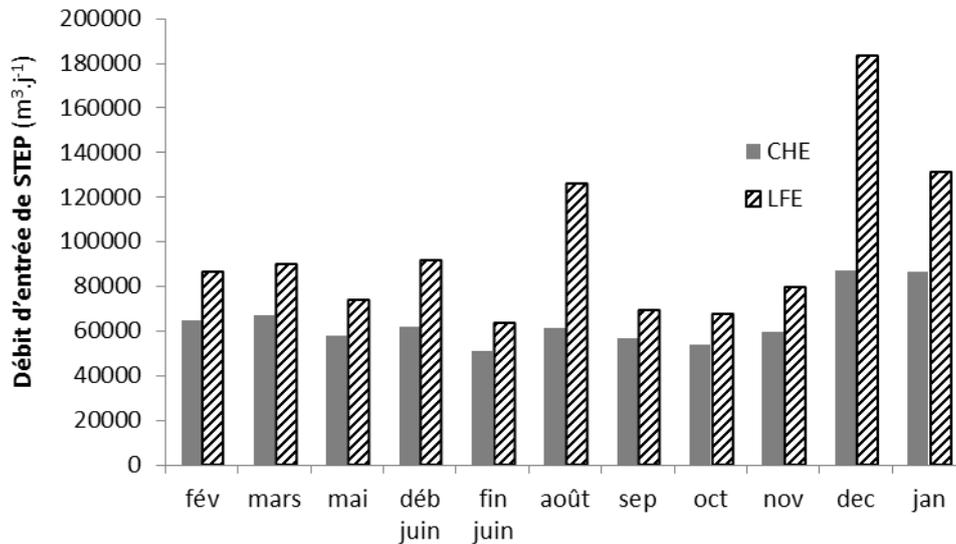


Figure 23. Evolution des débits d'entrée de STEP sur les 11 campagnes de prélèvement.

Ont donc été considérées comme typiques d'un temps de pluie les campagnes de décembre 2011 et janvier 2012. Les campagnes représentatives d'un temps sec sont février, mars, mai, fin juin, octobre et novembre 2011. Les campagnes de début juin et de septembre présentent une situation intermédiaire.

La campagne du mois d'août s'est déroulée lors d'un fort orage. Le premier jour de prélèvement (01/08/11) est caractéristique d'un temps sec estival alors que le 02/08/11 est marqué par l'orage où 30 mm de pluie sont tombés en 45 min. Les trois échantillons ne peuvent être considérés comme un triplicat des mêmes conditions de prélèvement. Seul le 01/08/11 sera utilisé comme échantillon représentatif du mois d'août tandis que le 02/08/11 et le 03/08/11 permettront l'analyse de l'impact d'un orage d'été.

1.2 La Gironde

1.2.1 Description des points de prélèvement

Au total, 9 points ont été étudiés, dont 6 ont été suivis régulièrement pendant 19 mois et 3 en amont ont fait l'objet d'études ponctuelles (Figure 24).

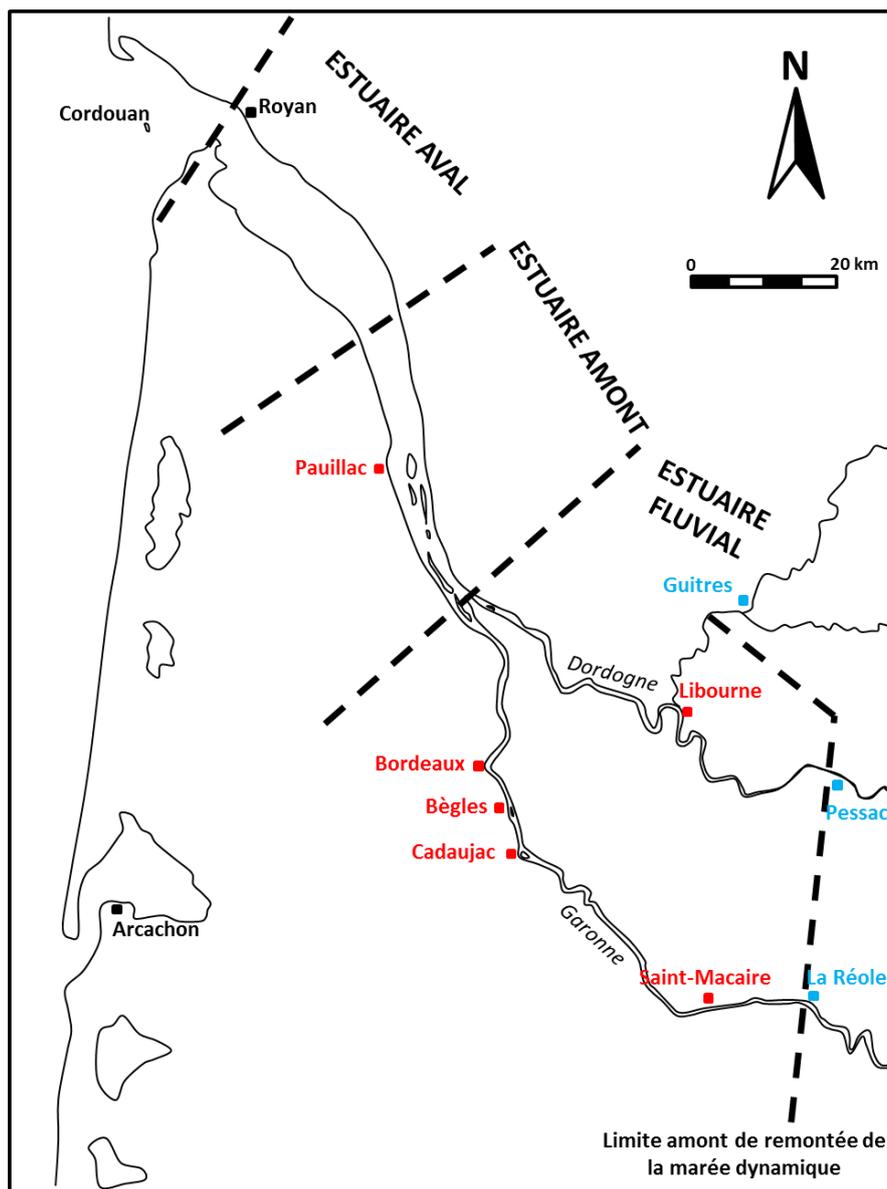


Figure 24. Localisation des points échantillonnés en estuaire de la Gironde. Suivi régulier : en rouge, suivi ponctuel : en bleu.

Les conditions de prélèvement ainsi que les coordonnées de chaque point sont présentées ci-dessous. Les photographies aériennes des points de prélèvement sont données en Annexe 3.

Saint-Macaire : Depuis un ponton flottant situé sur la rive droite. Saint-Macaire se situe à 16 km en aval de La Réole, point considéré comme la limite amont de remontée de la marée dynamique. $44^{\circ}33'51.80''\text{N}$; $0^{\circ}13'2.15''\text{O}$.

Cadaujac : Depuis un ponton du port de l'Esquillot, en rive gauche, sur la commune de Cadaujac. $44^{\circ}44'26.85''\text{N}$; $0^{\circ}30'23.13''\text{O}$.

Bègles : Au bout des pontons de port Garonne, en rive gauche, entre le point de rejet de la station d'épuration Clos de Hilde (100 m transversalement) et l'île d'Arcins. En raison des fortes turbulences en ce point ayant entraîné l'éclatement des membranes des échantillonneurs de type POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler – cf. section 2 de ce chapitre) lors d'une précampagne, ces

échantillonneurs ont été installés dans une cage fabriquée spécialement à cet effet et placés dans un tube fendu limitant le brassage. 44°47'58.31"N ; 0°31'37.99"O.



Figure 25. Cage spécifique au point Bègles (figure de gauche) et tube d'exposition (figure de droite).

Bordeaux : Depuis les pontons du Port Autonome de Bordeaux, à proximité directe de la station Magest. Ce point est situé en rive gauche, à 1 km en aval du rejet de la station Louis Fargue. 44°51'51.23"N ; 0°32'44.04"O.

Pauillac : En rive gauche, au niveau des installations d'Airbus. 45°13'4.62"N ; 0°44'46.12"O.

Libourne : En rive droite, depuis les pontons de la ville de Libourne, à 200 m du confluent entre la Dordogne et l'Isle. 44°54'50.19"N ; 0°14'56.63"O.

La Réole : En rive gauche depuis un ponton privé. 44°34'41.56"N ; 0° 2'0.12"O.

Pessac-Sur-Dordogne : En rive droite, depuis la berge. 44°49'13.39"N ; 0° 4'38.09"E.

Guîtres : En rive droite, depuis un ponton privé. 45° 2'20.37"N ; 0°11'14.98"O.

1.2.2 Méthodologie d'échantillonnage

Le prélèvement a été effectué selon deux méthodes : par prélèvement ponctuel et par échantillonnage passif. Les échantillons ponctuels ont été collectés dans une bouteille de 2,5 L en verre ambré à l'aide d'un préleveur manuel lesté, à une profondeur d'environ 50 cm sous la surface. Les échantillonneurs passifs, installés sur des supports (holders) et montés dans des cages de 3 ou de 6 POCIS (sauf Bègles), ont été fixés aux pontons entre 0,50 et 1 m sous la surface. Le matériel, fourni par Exposmeter (Tavelsjö, Suède), est présenté Figure 26.



Figure 26. POCIS montés sur leurs supports (holder) et cage après exposition.

Les prélèvements ont été réalisés de juin 2011 à janvier 2013 à une fréquence approximativement mensuelle. A Bordeaux, Bègles et Saint-Macaire, 19 échantillons d'eau ont été prélevés. A Libourne, Pauillac et Cadaujac, le suivi par échantillonnage ponctuel n'a commencé qu'en février 2012, soit un total de 12 échantillons. Les prélèvements par POCIS sont au nombre de 21 par point sur toute la période suivie.

Après échantillonnage, les eaux et les POCIS sont ramenés au laboratoire, les eaux étant filtrées conformément au protocole défini en section 3.2.1 de ce chapitre, dans un délai maximum de 6 h puis congelées, afin de conserver la phase dissoute. Toutefois, lors des campagnes de juillet, août et octobre 2012, la phase particulaire a également été conservée. Les particules sont recueillies sur des filtres préalablement portés à 450 °C pendant 8 h et pesés. En fonction de la concentration en matières en suspension (MES), on filtre le volume d'eau permettant de recueillir idéalement entre 100 et 500 mg de matière sèche, généralement de 4 à 8 filtres saturés. Après filtration, les filtres sont recueillis dans une barquette en aluminium préalablement tarée et sont stockés au congélateur jusqu'à analyse. Les POCIS sont rincés par quelques millilitres d'eau ultra-pure et congelés jusqu'à leur analyse.

1.3 Le site spécifique de la Jalle de Blanquefort

1.3.1 Description des sites

Dans le but d'évaluer le devenir des médicaments après leur rejet dans l'environnement, une étude spécifique a été conduite dans une rivière à faible débit et écoulement unidirectionnel : la Jalle de Blanquefort (débit moyen $3 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, longueur 34 km, bassin versant 322 km^2). La rivière est dans un secteur très urbanisé au nord de la Communauté Urbaine de Bordeaux et reçoit le rejet de la station d'épuration de Cantinolle (capacité de 85 000 EH, équipée de biofiltres). Le débit moyen de rejet de

la station d'épuration (données 2011, Lyonnaise des Eaux) est de $0,12 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Le bras latéral, non impacté, a un débit relativement faible par rapport au bras principal.

1.3.2 Méthodologie d'échantillonnage

L'objectif étant de mener une étude de présence et de partition complète, la phase dissoute, la phase particulaire et les sédiments de surface ont été échantillonnés. Les 2 campagnes de prélèvement ont été réalisées le 12/12/11 et le 23/07/12.

Les 7 points de prélèvement en rivière sont présentés Figure 27, leur coordonnées GPS étant précisées dans le Tableau 19 et les photos aériennes des points sont disponibles en Annexe 3. L'effluent de sortie moyenné 24 h échantillonné par préleveur automatique asservi au débit de la station d'épuration a été récupéré (2 L).

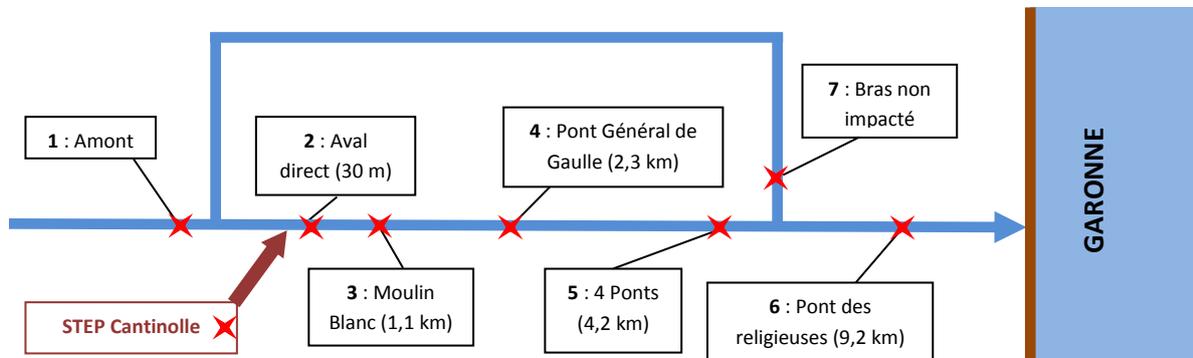


Figure 27. Points de prélèvements de la Jalle de Blanquefort et distance au rejet.

Tableau 19. Coordonnées GPS des points de prélèvements.

Amont	Non impacté	30 m	1,1 km	2,3 km	4,2 km	9,2 km
44°53'41.32"N 0°40'15.47"O	44°54'33.43"N 0°35'51.40"O	44°53'43.70"N 0°39'58.27"O	44°53'45.55"N 0°39'12.31"O	44°53'42.72"N 0°38'21.54"O	44°54'1.90"N 0°37'3.13"O	44°54'50.33"N 0°33'34.47"O

A chaque point dans la rivière, 20 L d'eau ont été prélevés dans un bidon en PEHD ainsi qu'un volume approximatif de 500 mL de sédiment. Les sédiments ont été prélevés à l'aide d'une benne Ekman ou d'une cuillère à sédiments et immédiatement transférés dans une barquette en aluminium à couvercle puis congelés. Après prélèvement, les échantillons ramenés au laboratoire ont été filtrés dans un délai maximum de 6 h. Compte tenu de la nature colloïdale des MES, saturant les filtres, l'étude de la phase particulaire a nécessité la récolte 5 à 10 filtres.

2 L'étude spécifique par échantillonneur passif

2.1 Intérêt de leur utilisation dans l'hydrosystème de la Gironde

Les échantillonneurs passifs présentent un intérêt double : ils rendent compte d'une concentration moyenne dans un milieu, lissant ses variations naturelles et ils permettent de baisser les limites de

détection d'un analyte par leurs propriétés intégratives. L'hydrosystème complexe et hautement variable de la Gironde se prête tout particulièrement à l'étude par échantillonneurs passifs. En effet, compte tenu de la marée, les concentrations en micropolluants au niveau de Bordeaux peuvent varier d'un facteur 3 dans une même journée comme le montrent les concentrations en sotalol simulées en aval du rejet de la STEP Louis Fargue (Figure 28). Contrairement aux échantillonneurs passifs, des prélèvements ponctuels de fréquence faible peuvent engendrer des erreurs d'estimation des niveaux de concentration.

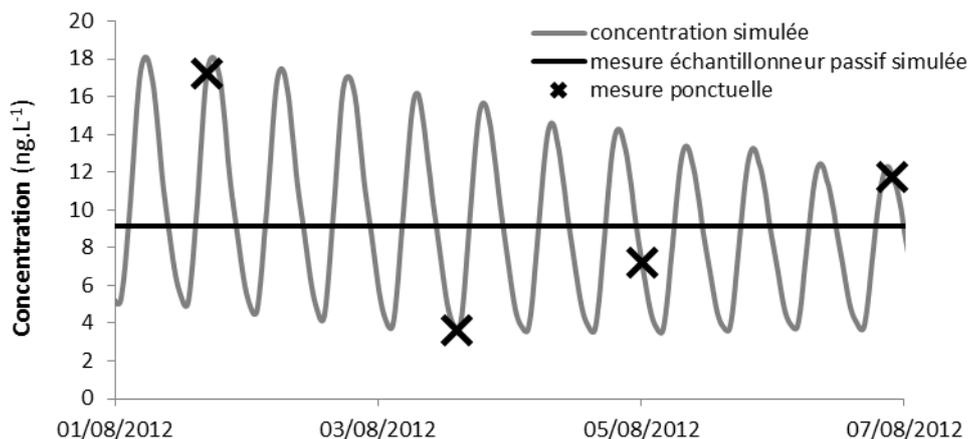


Figure 28. Concentrations en sotalol simulées à l'aide du logiciel de modélisation hydrodynamique Mike 11 (cf. chapitre 4.3, section 3.6.2) en aval de Bordeaux et mesure théorique par échantillonneur passif et prélèvement ponctuel.

En outre, avec des taux de dilution moyens en 2011 entre la STEP et le milieu de 320 fois en ne tenant compte que des débits fluviaux et pouvant atteindre 5000 fois en tenant compte des courants de marée, les concentrations attendues dans le milieu sont à l'état de traces et l'abaissement des limites de détection revêt une importance primordiale.

Dans le cadre de cette étude, le choix s'est porté sur les échantillonneurs passifs de type Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS). En effet, ils sont adaptés aux molécules polaires de log Kow compris entre 2 et 4, donc à la majorité des médicaments de l'étude. Par ailleurs, en modifiant leur constitution, ils sont adaptables aux filtres UV, plus hydrophobes. En outre, ces outils ont déjà été développés au sein du laboratoire pour certaines molécules à l'étude (Togola et Budzinski, 2007 ; Capdeville, 2011 ; Belles, 2012).

2.2 Principe de fonctionnement

L'échantillonnage par POCIS est basé sur le transfert passif des micropolluants organiques de la phase dissoute vers la phase réceptrice (Oasis HLB) par différence de potentiel chimique (structure d'un POCIS donnée Figure 29). Le profil d'accumulation au cours du temps dans la phase adsorbante est décrit dans la Figure 30 (Alvarez *et al.*, 2004).

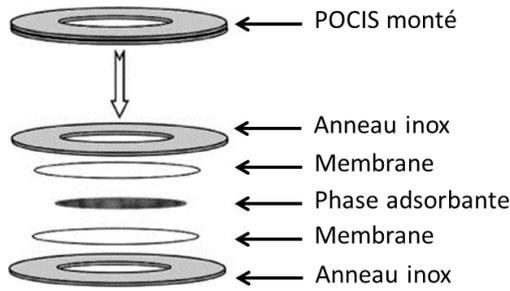


Figure 29. Vue éclatée d'un POCIS.

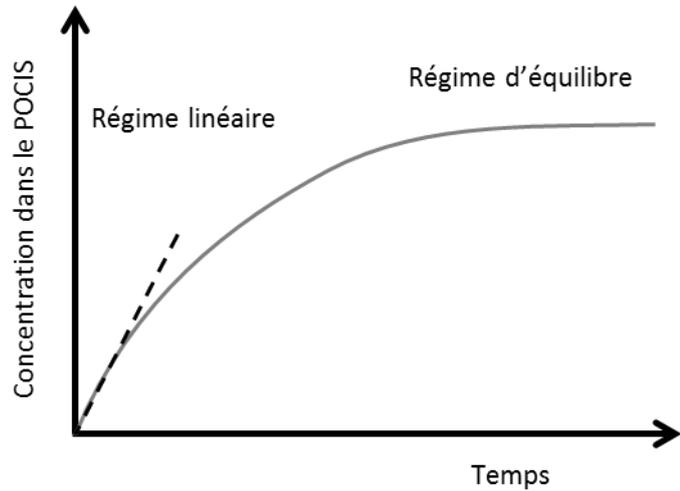


Figure 30. Profil d'accumulation théorique d'une molécule organique dans un POCIS à concentration constante dans l'eau.

L'objectif est de travailler dans le régime linéaire puisque la concentration dans le POCIS est alors directement proportionnelle à la concentration dans l'eau selon la relation suivante (Alvarez *et al.*, 2007) :

$$C_{POCIS} = \frac{C_{eau} \cdot R_s \cdot t}{M_{POCIS}}$$

Où : C_{POCIS} est la concentration d'un analyte donné dans le POCIS ; C_{eau} la concentration moyenne de ce composé dans l'eau lors de la période d'exposition t , M_{POCIS} la masse de phase réceptrice et R_s le taux d'échantillonnage.

La détermination du taux d'échantillonnage est donc à la base de la quantification d'une concentration moyenne dans l'eau. Il peut être déterminé expérimentalement, par l'analyse en conditions contrôlées de la concentration des analytes dans l'eau dans un bac d'exposition et la concentration séquestrée au cours du temps dans les échantillonneurs.

Cependant, le taux d'échantillonnage est influencé par les paramètres environnementaux comme le régime hydraulique, la température ou le développement de biofilms (Li *et al.*, 2010 ; Li *et al.*, 2011). Belles (2012) a ainsi montré des variations d'un facteur 6 sur les taux d'échantillonnage d'une même molécule.

Afin de compenser ces biais, il est possible d'introduire des composés de référence et de performance (PRC) dans la phase réceptrice de l'échantillonneur passif avant exposition (Mazzella *et al.*, 2010). Les PRC idéaux sont des molécules deutérées puisqu'elles sont absentes du milieu naturel. Leur désorption durant la période d'exposition permet d'estimer la constante d'élimination (k_e), déterminée à partir de la formule : $C_{PRC}(t) = C_{0\ PRC} \cdot e^{-k_e t}$ (Belles *et al.*, 2013b).

Cette approche est basée sur l'hypothèse d'une isotropie des échanges entre phase dissoute et phase réceptrice : les facteurs influençant les cinétiques d'accumulation des composés dans la phase réceptrice affectent de la même manière les cinétiques de désorption des PRC. Belles (2012) a

montré que cette approche corrigeait correctement l'influence de la température et du courant mais était limitée pour compenser celle du pH et de la salinité.

Après avoir déterminé un couple taux d'échantillonnage – constante d'élimination d'un PRC en laboratoire et compte tenu de la constante d'élimination mesurée *in-situ*, il est possible de corriger le taux d'échantillonnage *in-situ* par la relation (Mazzella *et al.*, 2010) :

$$R_S^{in\ situ} = R_S^{labo} \cdot \frac{k_e^{in\ situ}}{k_e^{labo}}$$

2.3 Montage préalable des échantillonneurs

Avant leur exposition sur le terrain ou en calibration, les échantillonneurs passifs de type POCIS sont montés en laboratoire. Les membranes utilisées dans cette étude sont des membranes en polyéthersulfone (PES) de diamètre de pore de 0,1 μm , achetées chez VWR (Strasbourg, France). Pour l'application aux filtres UV, des membranes en Nylon aux pores de 30 μm de diamètre ont également été utilisées, achetées chez Fischer Bioblock Scientific (Illkirch, France). La phase adsorbante est de la phase Oasis HLB, fournie par Waters (St Quentin en Yvelines, France).

Avant montage, les membranes et la phase adsorbante sont nettoyées par immersion dans du méthanol à 3 reprises pendant 10 min. La phase est ensuite séchée sous vide et les membranes sont séchées à l'étuve.

Dans le cadre de l'approche PRC, la phase doit être, après nettoyage, enrobée des composés de référence et de performance. Pour cela, la phase est dopée par une solution contenant les PRC à une concentration approximative de 10 μg par gramme de phase. Les PRC utilisés sont : caféine ^{13}C , salbutamol d3 et DIA d5, choisis d'après les travaux de Belles *et al.* (2013b). Après ajout de 50 mL de dichlorométhane, le solvant est évaporé par évaporateur rotatif et la phase est séchée sous vide dans un bain thermostaté (50 °C).

Une fois montés, les POCIS sont conservés sous poche scellée au congélateur. Ils sont finalement montés sur support puis dans une cage avant exposition.

Après exposition, les POCIS sont ramenés au laboratoire où ils sont rincés par quelques millilitres d'eau ultra-pure. Les POCIS sont ensuite congelés jusqu'à leur analyse.

2.4 Méthodologie de calibration des POCIS

En conditions contrôlées, il s'agit de mesurer la concentration d'un contaminant présent dans l'eau et séquestré dans la phase réceptrice de l'échantillonneur à différents temps d'exposition et de la normaliser par la concentration moyenne de ce contaminant dans l'eau. On obtient alors un facteur de concentration, proportionnel à la durée d'exposition de l'échantillonneur si l'accumulation est linéaire. La pente de la courbe (facteur de concentration = $f(t)$) donne le taux d'échantillonnage.

Pour cela, un aquarium d'exposition est contaminé en flux continu par une solution concentrée d'analytes. Cette solution est préparée par dissolution des cristaux des molécules à calibrer dans un solvant organique (ici l'acétonitrile). Un système d'apport d'eau et de débordement par pompe péristaltique assure un taux de renouvellement élevé, idéalement 50 % par jour. Le flux continu couplé au taux de renouvellement élevé permet d'assurer une concentration constante dans l'eau, en compensant la quantité de contaminant captée dans les échantillonneurs ainsi qu'en s'affranchissant des pertes par adsorption, volatilisation ou dégradation (chloration si on utilise de l'eau du robinet, hydrolyse...).

Les protocoles de calibration sont adaptés de protocoles ayant déjà fait l'objet de thèses ou de publications (Belles *et al.*, 2013a ; Abou Mrad, 2011 ; Capdeville, 2011 ; Soulier, 2012). Le schéma de principe du dispositif utilisé est donné Figure 31. Après dopage initial de l'eau de l'aquarium d'exposition à la concentration visée, la solution de contamination est apportée à l'aide d'un pousse-seringue en raison de la stabilité des débits d'un tel système. Des pales de brassage assurent l'homogénéisation du bac d'exposition. Les différentes calibrations menées dans ces travaux ont été réalisées dans des aquariums de 15, 25 et 300 L.

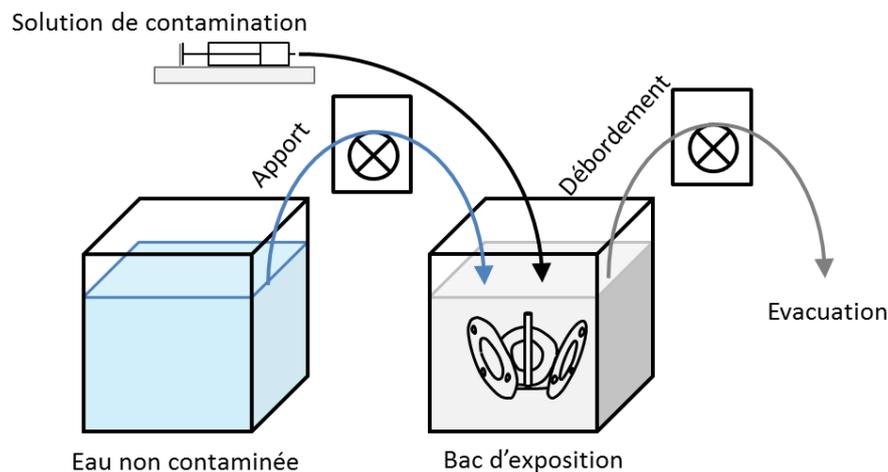


Figure 31. Schéma de principe d'une calibration de POCIS. La solution de contamination est apportée par un pousse-seringue, l'apport et le débordement sont assurés par des pompes péristaltiques.

Après débordement, les eaux contaminées sont retraitées sur charbon actif avant d'être évacuées dans le réseau d'eaux usées résiduelles. Le charbon actif est ensuite éliminé dans le circuit des déchets contaminés de laboratoire.

L'eau du bac est échantillonnée régulièrement, tous les 2 à 4 jours, puis extraite. Les POCIS sont exposés sur des périodes allant jusqu'à un mois puis prélevés et extraits.

Dans ces travaux de thèse, quatre calibrations ont été conduites. Les dispositifs expérimentaux sont précisés Figure 32 et les conditions opératoires de chacune sont détaillées dans le Tableau 20.

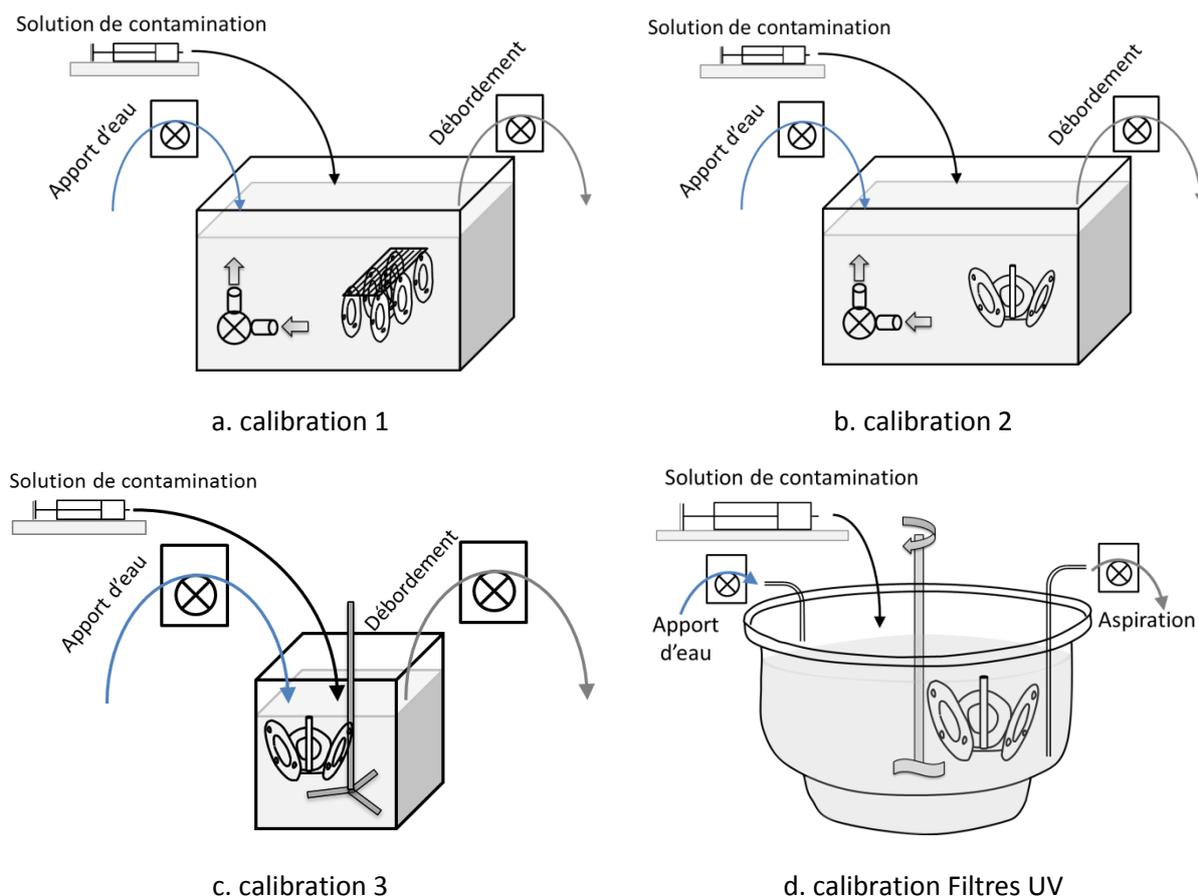


Figure 32. Schéma des dispositifs expérimentaux utilisés pour la calibration des analytes.

Tableau 20. Détail des conditions opératoires des calibrations POCIS.

Paramètre	Médicaments			Calibration FUV
	Calibration 1	Calibration 2	Calibration 3	
Volume du bac (L)	300	300	25	15
Nombre de POCIS dans le bac	84	60	12	12
Brassage	pompe immergée	pompe immergée	pale métallique	hélice en verre
Surverse	débordement	débordement	débordement	aspiration au fond
Fixation POCIS	supports en plastique	« holders »	« holders »	« holders »
Ajout d'antioxydant thiosulfate de sodium (100 mg.L ⁻¹)	non	non	oui	oui
Concentration visée dans l'eau (ng.L ⁻¹)	150	300	10 000	10 000
Durée de l'exposition (j)	30	20	15	15

Le volume du bac d'exposition a été adapté en fonction des besoins en POCIS à immerger. Les débits d'apport d'eau et de solution de contamination sont réglés pour assurer un renouvellement journalier du volume d'eau contaminée de 50 %. Sous ces conditions, moins de 50 % de l'apport

journalier en contaminant est séquestré dans les échantillonneurs pour un taux d'échantillonnage moyen de 0,3 L.j⁻¹ : dans la calibration filtres UV aux conditions les plus limitantes de 12 POCIS pour 15 L totaux, le volume d'eau épuré est de 4 L avec un tel taux d'échantillonnage, soit moins de 30 % du volume d'eau contaminée. La méthode de brassage dépend du volume d'eau à homogénéiser : pompe immergée pour les gros volumes et pale ou hélice pour les volumes plus faibles. La concentration visée est de 10 000 ng.L⁻¹ lorsque l'analyse des eaux sans reconcentration préalable est envisagée, 150 à 300 ng.L⁻¹ dans le cas contraire.

3 Préparation des échantillons

3.1 Origine des consommables

Les solvants utilisés sont de qualité HPLC, acétone, dichlorométhane, acétate d'éthyle, propan-2-ol, de marque Scharlau, fournis par ICS (Belin-Beliet, France) et acétonitrile, méthanol de marque Baker, fournis par Atlantic Labo (Eysines, France). Les composés étalons sont de haute pureté chimique (> 95 %), les composés marqués isotopiquement ont une pureté en atomes marqués supérieure à 90 %. Le détail des fournisseurs des 53 médicaments natifs, de leurs 32 étalons internes associés, des 6 filtres UV natifs et de leurs 3 étalons internes associés est donné en Annexe 6. L'eau minérale utilisée est de marque Vittel, fournie par France-Boisson (Lormont, France).

L'acide chlorhydrique à 37 % (Scharlau), l'acide formique en bouteille à 98 % (Baker) et l'acide formique en ampoule de 1 mL à 99 % (application filtres UV, de marque Baker) sont fournis par Atlantic Labo (Eysines, France), l'hydroxyde d'ammonium (28-30 %) par Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). L'eau ultra-pure est produite au laboratoire par un système Milli-Q, Millipore (Molsheim, France), selon les critères suivants : Carbone Organique Total < 2 ppb, résistivité 18,2 MΩ.cm à 20 °C. Les cartouches Oasis MCX[®] 60 mg sont achetées auprès de Waters (St Quentin en Yvelines, France).

3.2 Extraction des eaux

Compte tenu des concentrations attendues dans le milieu, une étape de préconcentration est nécessaire pour détecter les composés d'intérêt.

Le matériel utilisé a systématiquement subi un lavage en machine au détergent (TFD 7, Franklab) et à l'acide (Neutrax, Franklab). En outre, le matériel en verre, a été porté à 450 °C pendant une durée de 8 h.

3.2.1 Filtration

Après prélèvement, les échantillons sont filtrés au laboratoire. Pour l'analyse des médicaments, les eaux sont filtrées sur des unités de filtration en polysulfone (Nalgene) adaptées sur des bouteilles en verre. Afin d'éviter les contaminations croisées et puisque ce matériel en plastique ne peut être porté à 450 °C pour son nettoyage, 3 jeux d'unités ont été utilisés et dédiés au type d'échantillon :

eaux d'entrée de station d'épuration, eaux de sortie de station d'épuration et eaux de rivière. Pour l'analyse des filtres UV, l'utilisation indispensable d'unités de filtration en verre permet de les calciner à 450 °C.

Les membranes filtrantes utilisées sont en fibre de verre et ont un seuil de coupure de 0,7 µm, de marque Whatman GF/F et achetées chez VWR International (Fontenay-sous-Bois, France). Pour les échantillons d'entrée de station d'épuration, très chargés, une filtration préalable sur filtre en fibre de verre GF/A (Whatman) au seuil de coupure de 1,6 µm pouvait être nécessaire.

Après filtration les échantillons sont conservés dans un flacon en PEHD (Nalgene) pour l'analyse des médicaments ou une bouteille en verre borosilicaté (Duran) pour l'analyse des filtres UV puis stockés dans un congélateur réglé à -18 °C.

3.2.2 Extraction sur phase solide

- Principe

Le principe de l'étape de reconcentration repose sur une extraction sur phase solide (SPE) par percolation de l'échantillon aqueux sur une cartouche contenant une phase adsorbante, où les analytes vont se fixer. Dans un second temps, l'élution de la cartouche par un solvant ou un mélange de solvant ayant une plus forte affinité avec les analytes que la phase stationnaire permet d'éluer les molécules d'intérêt dans un plus faible volume de solvant organique. Le choix de la phase stationnaire est donc primordial pour l'extraction. Le protocole multi-résidus pour les médicaments d'intérêt est adapté à 53 molécules aux propriétés physico-chimiques contrastées. Leur coefficient de partage octanol - eau varie de -1,1 (lamivudine) à 5,4 (atorvastatine) avec une moyenne de 2,3. La phase stationnaire doit donc permettre d'extraire sur une large gamme de log Kow. Le choix s'oriente donc vers une phase inverse mixte hydrophile – lipophile de type Oasis HLB (Hydrophilic – Lipophilic – Balanced). Cette phase, copolymère de divinyl-benzène et de N-vinyl-pyrrolidone, est adaptée aux molécules neutres au pH d'extraction. En revanche, pour des molécules ionisées au pH d'extraction, l'effet dissociant de l'eau va diminuer l'affinité des analytes pour la phase et engendrer de faibles rendements d'extraction. L'alternative est l'utilisation d'un adsorbant échangeur d'ion ayant une rétention améliorée envers les anions (Oasis MAX) ou les cations (Oasis MCX). Ainsi, les phases MAX et MCX sont constituées d'une phase HLB à laquelle des groupements d'amines quaternaires (MAX) ou sulfonates (MCX) ont été greffés. La structure de ces trois types de phase est donnée Figure 33.

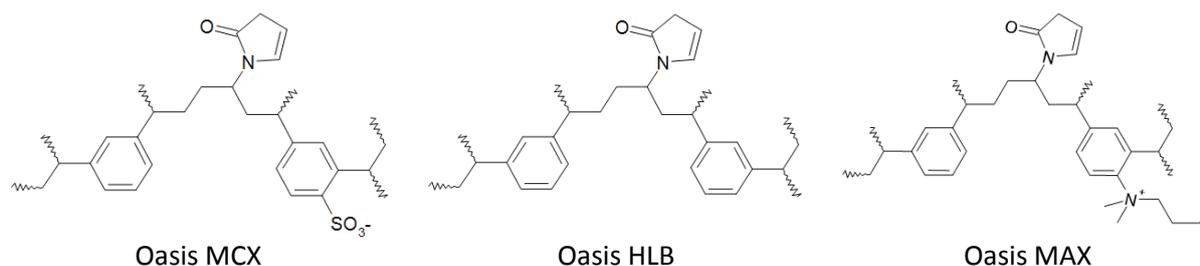


Figure 33. Structure des phases adsorbantes Oasis MCX, HLB et MAX.

Dans cette étude, pour l'analyse des médicaments, le choix s'est porté sur l'utilisation de cartouches MCX puisque le protocole a déjà fait l'objet d'une validation pour une partie des analytes (Togola et Budzinski, 2008). Le pH d'extraction est ajusté à 2, de telle sorte que les fonctions acides des molécules soient sous leur forme neutre protonée et les fonctions basiques sous forme cationique (exemple en Figure 34), conditions optimales pour l'adsorption par la phase MCX.

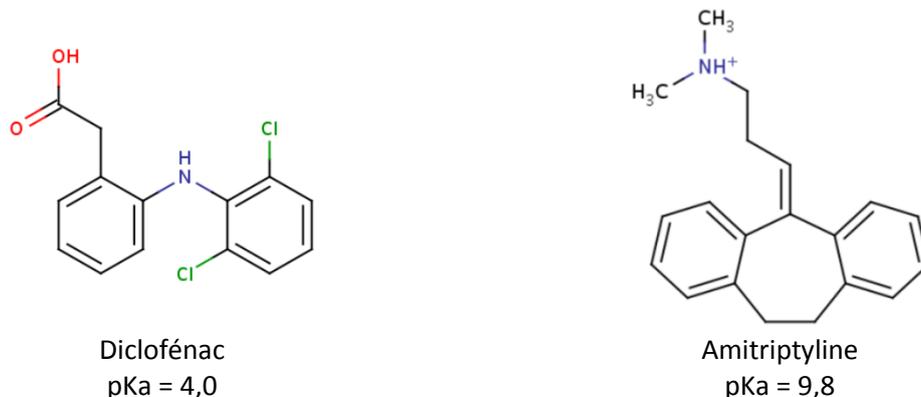


Figure 34. Formes majoritaires du diclofénac et de l'amitriptyline à pH 2.

Dans le cas des filtres UV, des cartouches HLB 200 mg ont été utilisées.

- Protocole d'extraction des médicaments (Figure 35)

Le volume d'échantillon à reconcentrer, appelé prise d'essai et obtenu par gravimétrie, est de 100 mL pour les eaux usées et de 200 mL pour les eaux de rivières. La prise d'essai est acidifiée à pH 2 par une solution d'acide chlorhydrique à 10 %.

Après ajout des étalons internes (cf. section 5.1 de ce chapitre), les échantillons sont déposés sur les cartouches Oasis MCX préalablement conditionnées. Le conditionnement, est effectué en deux temps par 3 mL d'acétate d'éthyle puis 3 mL d'eau Vittel à pH 2. Cette étape permet d'éliminer l'air emprisonné ainsi que les impuretés sur l'adsorbant mais aussi de solvater les sites d'adsorption. En outre, les 3 mL d'eau permettent l'équilibration de l'adsorbant avant percolation de la prise d'essai.

La percolation de l'échantillon a lieu par application d'un vide dans une cuve placée sous la cartouche. Le débit est réglé afin d'observer un goutte à goutte rapide mais discontinu (débit approximatif de $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$). Le protocole ne prévoit pas d'étape de lavage dans la mesure où, dans le cadre d'un tel protocole multi-résidus, les molécules présentant une faible affinité avec la phase risqueraient d'être éluées.

L'élution est faite en trois étapes après séchage sous vide des cartouches :

- 3 mL d'acétate d'éthyle
- 3 mL d'un mélange acétate d'éthyle / acétone (50/50, v/v)
- 3 mL d'un mélange méthanol / dichlorométhane (50/50, v/v) auxquels sont ajoutés 5 % d'une solution d'hydroxyde d'ammonium commerciale à 28-30 %.

Le troisième mélange de solvant, basique, permet une meilleure désorption des cations adsorbés aux groupes échangeurs d'ions.

Les 9 mL d'éluât sont ensuite reconcentrés à sec sous flux d'azote. La température de la plaque chauffante est fixée à 40 °C afin de limiter la perte des composés par évaporation ou dégradation (Baker et Kasprzyk-Hordern, 2011b). Baker et Kasprzyk-Hordern (2011b) ont constaté un plus fort impact de la température d'évaporation lorsque le solvant d'éluat est basique et l'expliquent par le pH du solvant, supérieur au pKa des bases, rendant les analytes basiques plus « non-polaires » sous leur forme neutre et par conséquent plus volatils.

A cause du caractère hydrophobe de certains analytes susceptibles de s'adsorber sur les parois du flacon, la reprise de l'extrait sec est réalisée avec insistance par 3 fractions de 100 µL d'acétonitrile. Celles-ci sont regroupées dans un flacon d'injection de chromatographie de 1,5 mL muni d'inserts et stockées au congélateur jusqu'à leur injection.

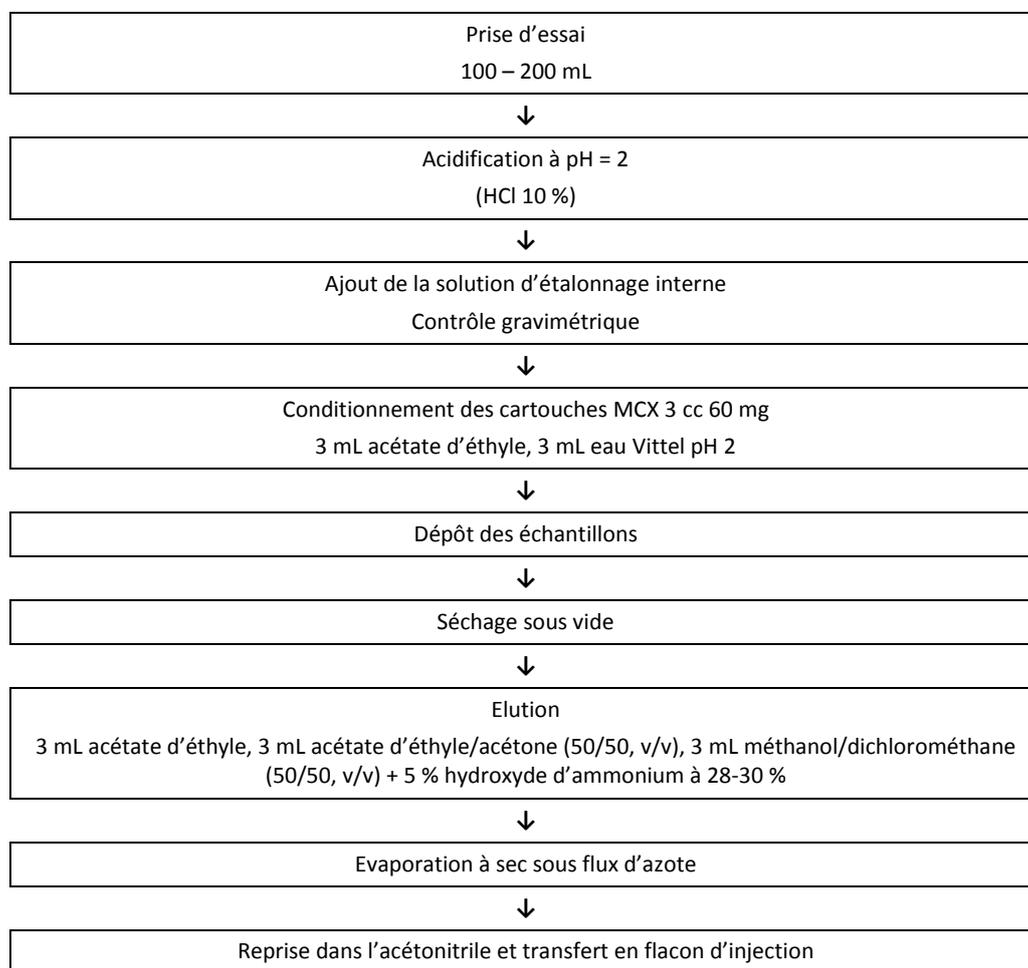


Figure 35. Synoptique du protocole d'extraction des médicaments de l'eau.

- Précautions propres à l'analyse des filtres UV

Les filtres UV étant des molécules d'usage dans les produits cosmétiques, les échantillons sont susceptibles d'être contaminés par les manipulateurs aux différentes étapes de l'analyse. Afin de se prémunir de cette contamination, plusieurs précautions ont été prises.

- Le matériel est strictement dédié aux filtres UV et est régulièrement pyrolysé,
 - la vaisselle pyrolysée est manipulée avec des gants,
 - le pH est contrôlé au papier pH et non au pH-mètre,
 - les blancs protocole sont réalisés en triplicats.
- Protocole filtres UV (Figure 36)

La prise d'essai est de 100 mL pour les eaux de station d'épuration et de 200 mL pour les eaux de rivière. Le pH est ajusté à 2.

Après ajout des étalons internes (*cf.* section 5.1 de ce chapitre), les échantillons sont déposés sur les cartouches préalablement conditionnées. Le conditionnement est effectué en deux temps par 3 mL de méthanol puis 3 mL d'eau Vittel à pH 2.

Après percolation de l'échantillon, les cartouches sont séchées sous vide. Les cartouches sont éluées par 2 fois 5 mL d'un mélange méthanol / dichlorométhane (50/50, v/v). L'éluât est enfin évaporé à sec sous flux d'azote avant reprise dans l'acétonitrile et transfert en flacon d'injection avec les mêmes précautions opératoires que pour les médicaments.

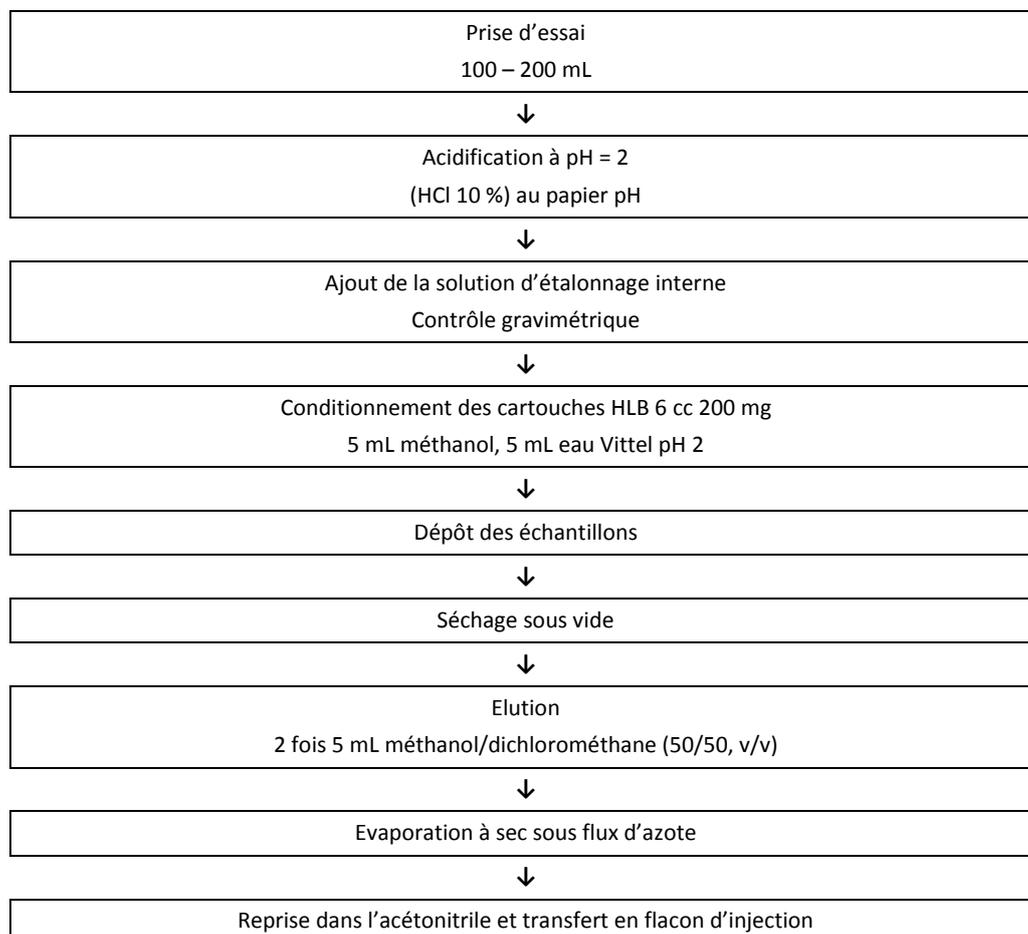
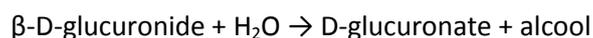


Figure 36. Synoptique du protocole d'extraction des filtres UV de l'eau.

3.2.3 Protocole de déconjugaison

Ce protocole a été appliqué à la méthode multi-résidus médicaments. Afin d'évaluer la part de médicaments sous forme conjuguée arrivant en station d'épuration, un protocole de déconjugaison a été mis au point. Il consiste en l'hydrolyse enzymatique des molécules glucuro-conjuguées et sulfo-conjuguées de l'échantillon afin de doser la somme des formes libres et conjuguées. Par différence avec l'analyse des formes libres seules (sans protocole de déconjugaison), on obtient la part conjuguée.

La déconjugaison entre l'acide glucuronique ou l'ion sulfate et la substance active du médicament est une hydrolyse catalysée par la β -glucuronidase selon la réaction suivante :



Cette enzyme a trois origines possibles pour son utilisation en chimie analytique : mammifères, bactéries ou mollusques, cette dernière étant la plus couramment utilisée. La β -glucuronidase type HP-2 de *Helix Pomatia* (type HP-2, aqueous solution, $\geq 100,000$ units/mL, achetée chez Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) est celle choisie pour cette étude car elle possède la plus forte activité glucuronidase et une activité sulfatase (Gomes *et al.*, 2009).

Le protocole est adapté de Mouatassim-Souali *et al.* (2003). On ajuste le pH de 50 mL d'échantillon à 5, pH optimal de l'enzyme. Après ajout de 50 μL d'enzyme, l'échantillon est placé dans une étuve réglée à 37 °C pendant 12 h puis traité comme un échantillon d'eau usuel.

3.3 Extraction des matrices solides

- Principe de l'extraction

Avant analyse, les échantillons de filtres ou de sédiments sont lyophilisés. Buchberger (2011) souligne une possible surestimation des concentrations par cette méthode puisqu'à l'issue de la lyophilisation, les contaminants initialement dans la phase dissoute interstitielle contribuent à la contamination de la matrice solide. Dans le cas de particules, la proportion d'eau résiduelle contenue dans le filtre est négligeable puisque ils ont été séchés sous vide après filtration. Dans le cas de sédiments, cette surestimation peut exister pour les molécules les plus hydrophiles. Dans le cas de la carbamazépine où les concentrations typiques rencontrées dans la rivière Jalle de Blanquefort sont de 50 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ dans l'eau et 1 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ dans le sédiment (*cf.* chapitre 4.2), la proportion d'eau interstitielle apporterait 10 % de la contamination globale portée par le sédiment lyophilisé si celui-ci était initialement composé à 95 % d'eau, ce qui est élevé et improbable. Compte tenu de ces calculs, il est acceptable de négliger la part de contaminants apportés par l'eau interstitielle.

L'analyse des médicaments dans les matrices solides repose sur l'extraction assistée par micro-ondes focalisées. Cette technique d'extraction a déjà été appliquée aux médicaments (Azzouz et Ballesteros, 2012 ; Togola, 2006). La matrice solide est introduite dans un matra en présence d'un solvant organique et le matra est ensuite placé dans le système d'extraction (Figure 37).

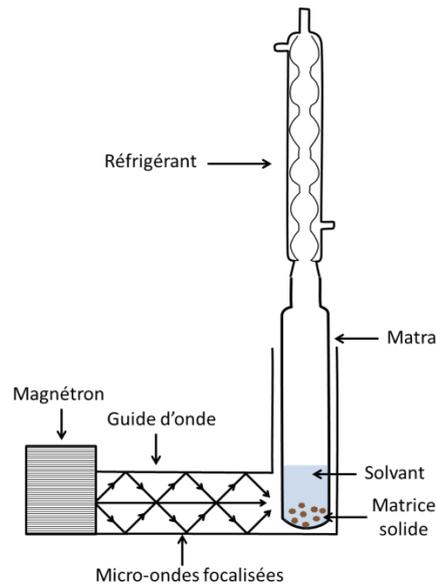


Figure 37. Schéma du système d'extraction assistée par micro-ondes focalisées.

Les micro-ondes sont générées dans un magnétron puis conduites dans un guide d'onde jusqu'au matras. L'énergie apportée par les micro-ondes va permettre de chauffer le solvant en contact avec la matrice solide et de favoriser la partition des analytes vers le solvant (Sanchez-Prado *et al.*, 2010). Après extraction, le solvant peut être reconcentré avant injection ou subir une étape de purification par SPE. Ici, une purification par SPE est appliquée.

- Protocole médicaments (Figure 38)

Une prise d'essai de 500 mg de sédiment lyophilisé est introduite dans un matras puis dopée en étalons internes. On complète avec 30 mL d'un mélange acétonitrile/eau Vittel pH = 2 (70/30, v/v). L'extraction a lieu pendant 10 min à une puissance de 15 W. Après extraction, le solvant est isolé de la matrice extraite par filtration sur coton de verre. Le solvant est ensuite évaporé par un système d'évaporation sous vide Rapidvap (45 min, 80 °C, 650 mbar) jusqu'à un volume final approximatif de 3 mL. Cet extrait est complété par 30 mL d'eau Vittel à pH 2 puis traité comme un échantillon d'eau suivant le protocole d'extraction de l'eau.

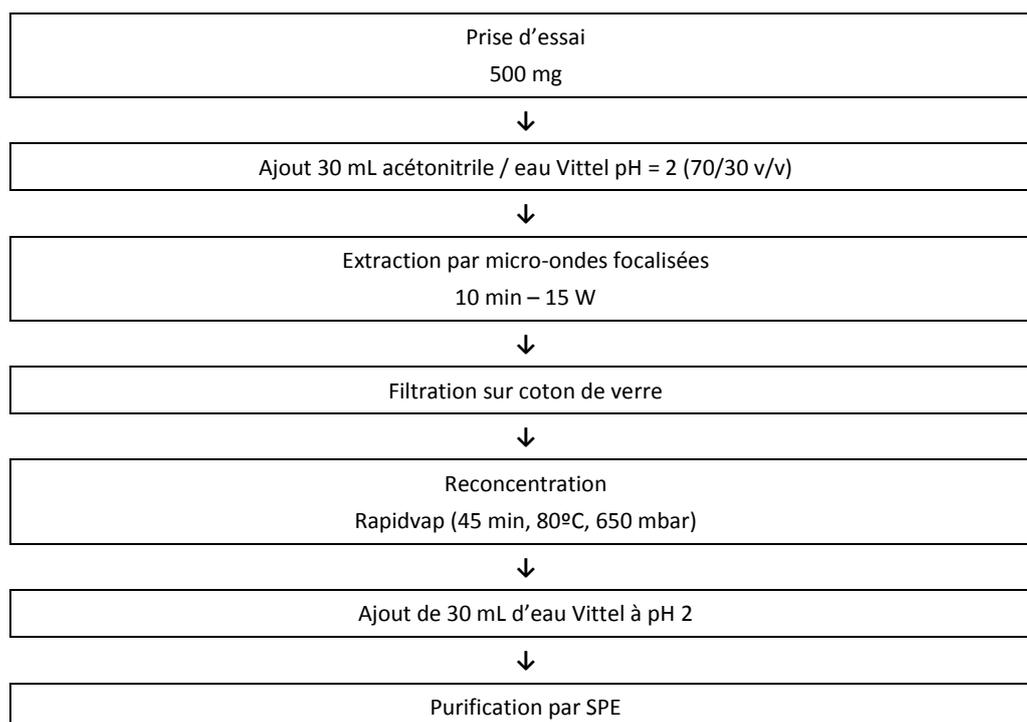


Figure 38. Synoptique du protocole d'extraction des médicaments de matrices solides.

3.4 Extraction de la phase réceptrice des échantillonneurs passifs (POCIS)

Le protocole d'extraction des POCIS est identique pour les médicaments et les filtres UV. Après ouverture du POCIS, la phase est collectée dans une cartouche en verre de 6 mL à l'aide d'un petit volume d'eau Vittel. Après transfert, la phase est séchée puis éluée par successivement 10 mL de méthanol, 10 mL d'un mélange méthanol/dichlorométhane (50/50, v/v) et 10 mL de dichlorométhane. Les étalons internes ont été préalablement introduits par contrôle gravimétrique dans les flacons de récupération de l'éluât. Les analytes contenus dans ces 30 mL sont ensuite reconcentrés à sec par un système d'évaporation sous vide Rapidvap (45 min, 80 °C, 650 mbar) puis repris dans l'acétonitrile et transférés en flacons d'injection comme dans le cas des extraits d'eau.

4 Analyse par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse

4.1 Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) triple quadrupôle

4.1.1 Instrument analytique

Compte tenu de la polarité des analytes, qui, pour être analysés en chromatographie en phase gazeuse, nécessiteraient une dérivation, la chromatographie en phase liquide est la technique séparative la plus adaptée dans le cas du protocole multi-résidus médicaments. C'est également la technique séparative pour l'analyse des filtres UV bien que, pour ces molécules hydrophobes, la

chromatographie en phase gazeuse pouvait être envisageable. La séparation est basée sur les différences d'affinité entre analyte, phase stationnaire et phase mobile.

Après séparation chromatographique, la détection est assurée par un couplage à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) de type triple quadrupôle. A la fois sélective et sensible, cette technique de détection est largement utilisée dans l'analyse environnementale ciblée (Gros *et al.*, 2006 ; Hummel *et al.*, 2006 ; López-Serna *et al.*, 2011).

Elle souffre cependant de limitations quant à l'ionisation des analytes. La source d'ionisation utilisée, par électronébulisation, est très sensible à la présence de sels ou d'additifs. Ainsi, dans le cas de matrices complexes telles que les effluents d'entrée de station d'épuration, une suppression de signal peut survenir, affectant alors la sensibilité théorique observée dans du solvant.

Les molécules sont ionisées en deux modes : mode d'ionisation positif (ESI+) ou mode d'ionisation négatif (ESI-). En mode d'ionisation positif, l'analyte va capter un proton H^+ alors qu'en mode d'ionisation négatif, l'analyte va céder un proton pour former un anion. Le mode d'ionisation positif est facilité par l'ajout d'un acide volatil dans la phase mobile (acide formique ou acide acétique). Le mode d'ionisation dépend des fonctions chimiques portées par l'analyte et en particulier de ses propriétés acido-basiques : un acide carboxylique sera préférentiellement ionisé en mode négatif tandis qu'une amine sera plus apte à se protoner et à être ionisée en mode positif.

Après ionisation, la détection est assurée en mode « Multiple Reaction Monitoring » dynamique (MRM dynamique). Ce mode de détection est à l'origine de la sélectivité des triples quadrupôles : un ion formé dans la source est sélectionné par un premier quadrupôle, fragmenté dans la cellule de collision puis l'un de ses fragments est sélectionné par le second quadrupôle. Le couple ion parent – ion fils, spécifique à un analyte, est appelé transition. Le mode dynamique MRM est dérivé de cette méthode de détection. Une transition donnée n'est acquise que sur une plage de temps donnée (par exemple dans un intervalle de 2 minutes autour du temps de rétention), permettant, à un instant donné, de réduire le nombre de transitions enregistrées. Cela a pour effet de diminuer le temps de cycle donc de permettre un temps de balayage (en anglais « dwell time ») plus élevé, améliorant de ce fait la sensibilité.

4.1.2 Médicaments en mode d'ionisation positif

L'instrument est une chaîne HPLC 1200 Agilent Technologies couplée à un spectromètre de masse à triple quadrupôle Agilent Technologies 6410 avec ionisation par électronébulisation. Le détail de la méthode analytique est donné en Annexe 7. Brièvement, les analytes sont séparés sur une colonne de 5 cm en phase inverse greffée C18 en 17 min, avec un gradient de phase mobile composée d'eau ultrapure et d'acétonitrile acidifiés à 0,1 % d'acide formique. Les 108 transitions associées aux 41 composés natifs (transition de quantification et transition de confirmation) et aux 26 composés deutérés et aux PRC (une seule transition) sont acquises en mode MRM dynamique à raison de 2 à 53 transitions concurrentes selon le temps de rétention, imposant un dwell time variable de 12 à 397 ms.

4.1.3 Médicaments en mode d'ionisation négatif

L'instrument est identique à celui du protocole d'analyse des médicaments en mode d'ionisation positif. Le détail de la méthode analytique est donné en Annexe 7. Les conditions chromatographiques sont proches de celles appliquées aux médicaments en mode d'ionisation positif, à la différence près que les phases mobiles ne sont pas acidifiées et que le gradient dure 38 min. Ce temps d'analyse se justifie pour permettre une bonne séparation du kétoprofène et d'un interférent répondant à la même transition.

Les 12 composés natifs et les 11 étalons internes associés correspondent à l'acquisition de 32 transitions, en mode MRM simple, avec un dwell time de 20 ms. Le choix ne s'est pas porté vers de la MRM dynamique en raison de la variabilité des temps de rétention des analytes dans ce mode d'ionisation, le risque étant une élution du composé antérieure à la plage d'acquisition prévue.

4.1.4 Filtres UV

L'instrument est une chaîne Waters Acquity Ultra Performance LC couplée à un spectromètre de masse à triple quadrupôle Waters Quattro Premier XE avec ionisation par électro-ébulisaison. Le détail de la méthode analytique est donné en Annexe 7. Les conditions chromatographiques sont identiques à celles appliquées aux médicaments en mode d'ionisation positif, avec un gradient de 6 min. Le taux de solvant de début de gradient est relativement organique (30 % d'acétonitrile) et la pente est élevée, atteignant 100 % d'acétonitrile en 3 min, conditions nécessaires à l'élution de ces analytes relativement hydrophobes. Le dwell time est fixé à 20 ms pour les 15 transitions acquises.

4.2 Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse hybride quadrupôle/temps de vol

Face au challenge de la détection de nouvelles molécules, les études bibliographiques prédictives associées à l'analyse ciblée trouvent leurs limites. Par exemple, la cétirizine, 280^{ème} substance active de médicament consommée par sa quantité en France en 2010 (données MEDIC'AM, cf. chapitre 1, section 2.4), n'a qu'une consommation faible qui aurait pu écarter sa sélection d'une liste de priorisation basée sur ce critère. Les résultats d'analyse d'effluents (cf. chapitre 4.1, section 1.3.2) montrent pourtant qu'il s'agit d'une molécule réfractaire et sa bonne limite de détection (cf. chapitre 3.1, section 1.1.2) en fait un traceur de choix après rejet dans l'environnement.

Par ailleurs, l'un des enjeux actuels de l'analyse de micropolluants organiques est la détection de produits de transformation (Celiz *et al.*, 2009). La complexité des mécanismes de dégradation, en traitement des eaux comme dans l'environnement, rend également difficile la prédiction des structures moléculaires. La technologie de choix est alors l'analyse non ciblée par spectrométrie de masse haute résolution, celle-ci ne nécessitant pas la connaissance préalable des structures des produits de transformation et permettant en outre l'analyse rétrospective d'échantillons déjà acquis (Diaz *et al.*, 2013).

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse hybride quadrupôle/temps de vol combine la sélectivité d'un quadrupôle à la résolution d'un analyseur à temps de vol (TOF). Après séparation chromatographique, un quadrupôle sélectionne les ions précurseurs de rapport masse sur charge donné. Ces ions sont ensuite fragmentés dans une cellule de collision (gaz de collision : azote de qualité 5.0), les fragments générés sont analysés dans le tube de vol, leur masse étant mesurée à 10^{-4} Da près (Agilent Technologies, 2012). Cette masse exacte permet de reconstituer par le calcul (et dans certains cas d'après le massif isotopique) la composition atomique (formule brute) de chaque ion compte tenu des abondances isotopiques des atomes. Enfin, par croisement avec des bases de données existantes et par analyse des fragments en MS^2 , il est envisageable d'identifier la structure développée et le nom de la molécule.

Ici, cet outil va être appliqué à la caractérisation globale des eaux de station d'épuration. L'objectif est de rechercher des comportements structurels généraux entre entrée et sortie de station d'épuration, d'évaluer la représentativité des 53 molécules sélectionnées et de dépasser cette liste pour proposer de nouvelles molécules qui pourraient nécessiter des études environnementales.

En outre, appliqué aux expériences d'incubation, il s'agira d'évaluer des comportements globaux après dégradation.

4.2.1 Méthode d'analyse non ciblée

L'instrument est une chaîne HPLC 1290 Infinity Agilent Technologies couplée à un spectromètre de masse hybride quadrupôle/temps de vol Agilent Technologies 6540 avec ionisation par électrobulbation à Jet Stream. Le détail de la méthode analytique est donné en Annexe 7. Il s'agit à nouveau d'une séparation chromatographique en phase inverse greffée C18, sur une colonne de 10 cm, l'objectif étant de séparer les analytes du protocole ciblé sur un temps plus long, en 20 min, afin de limiter les co-élutions. Le temps de rétention est en effet un critère déterminant d'identification des molécules en analyse non ciblée.

Concernant la détection, le spectromètre est paramétré en mode MS simple haute résolution : le quadrupôle ne sélectionne aucun ion et la cellule de collision est inactive. Le spectromètre est calibré avant injection par infusion d'une solution de référence où 10 ions de 118 à 2722 m/z sont formés en mode d'ionisation positif et 12 ions de 113 à 2834 m/z en mode d'ionisation négatif. Durant l'acquisition, l'exactitude en masse est contrôlée en continu par infusion de cette même solution de référence, les ions suivis en mode positif étant 118,0863 et 922,0098 m/z et 966,0007 m/z en mode d'ionisation négatif. L'acquisition balaie la gamme de masses protonées de 40 à 1700 m/z à une vitesse de balayage de 2 GHz.

4.2.2 Retraitement des données

Les données brutes sont retraitées à l'aide du logiciel Agilent MassHunter Qualitative Analysis. La première étape de caractérisation moléculaire consiste à associer un ou plusieurs ions à une molécule. Pour cela, l'algorithme de calcul du logiciel prend en considération la distribution isotopique (intensité et massif isotopique), la possibilité d'ions multichargés issus d'une même

molécule (état de charge de 1 ou 2), la possibilité d'adduits de cette même molécule (+Na, +K, +NH₄ en mode ESI+ et -Cl, -Br, -COOH, -CF₃COO, -CH₃COOH en mode ESI-) ainsi que l'éventualité de dimères ou trimères. La tolérance en masse pour l'attribution d'une même molécule à 2 ions de masse proche est de 5 ppm soit, à 1 000 Da, une masse pouvant varier de 999,005 à 1 000,005 Da. On impose un minimum d'intensité des signaux de 10 000 coups pour l'étude des STEP (*cf.* chapitre 4.1, section 1.7) et de 5 000 coups pour l'étude des incubations (*cf.* chapitre 4.4, section 4.4).

Par la suite, il est possible d'attribuer à chaque molécule identifiée une formule brute, d'après les masses atomiques exactes et les critères dépendant sur le nombre d'atomes maximal : C 60, H 120, O 30, N 30, S 10, Cl 10, P 10, F 10, Br 10. Enfin, les composés peuvent être identifiés à partir de leur masse exacte par comparaison à la base de données MetLin (Metabolite and Tandem MS Database), donnant ainsi les structures développées correspondantes les plus probables.

Les informations structurelles sont basées par exemple sur les masses moléculaires ou les rapports atomiques. Ces approches globales ont déjà été appliquées pour qualifier la matière organique naturelle (Koch et Dittmar, 2006), comparer des pétroles (Fernández-Varela *et al.*, 2009) ou étudier la fumée de cigarette (Schramm *et al.*, 2011). De façon plus originale, Mesfioui *et al.* (2012) applique cette approche à la qualification de la labilité de l'azote organique porté par les effluents urbains. L'étude des diagrammes de Van Krevelen (H/C en fonction de O/C) d'effluents de station d'épuration incubés révèle trois comportements : les molécules dégradées, les molécules récalcitrantes et les molécules générées lors des incubations.

5 Expression des résultats

5.1 Quantification par dilution isotopique

Dans ces travaux, le choix de la méthode de quantification s'est porté sur la dilution isotopique pour plusieurs raisons. L'analyse fait suite à un protocole de préparation d'échantillon lourd, susceptible d'entraîner la perte de certains composés aux différentes étapes. Une quantification adaptée doit permettre de compenser les pertes dues aux étapes préparatives. La quantification par ajouts dosés présente l'intérêt d'intégrer l'ensemble du protocole de reconcentration et de compenser les effets de matrices (Kelly *et al.*, 2008) mais en cas de mauvaise reproductibilité de la méthode elle est susceptible de conduire à des résultats erronés. En outre, comme elle doit être envisagée dès la préparation d'échantillon, elle multiplie de façon conséquente le nombre d'échantillons à traiter. Par ailleurs, compte tenu de la diversité des matrices d'étude, la méthode de quantification doit être peu sensible aux effets de matrice ce qui limite l'application de l'étalonnage par gamme externe, celui-ci pouvant conduire à des larges sous-estimations des concentrations en cas d'extinction de signal. En dépit du prix des molécules marquées, la dilution isotopique est ici idéale pour compenser les pertes lors de la préparation des échantillons et l'extinction de signal, l'analyte et son étalon interne associé ayant les mêmes comportements (Gómez *et al.*, 2006 ; Lee *et al.*, 2013).

Pour cette étude, 33 molécules marquées permettent la quantification des 53 médicaments et des 4 PRC (Tableau 21).

Tableau 21. Analytes et étalons internes associés.

Famille	Analyte	Etalon interne associé
Antirétroviraux	abacavir	abacavir d4
	indinavir	indinavir d6
	lamivudine	lamivudine ¹⁵ N2- ¹³ C
	nelfinavir	névirapine d3
	névirapine	névirapine d3
	ritonavir	névirapine d3
	saquinavir	névirapine d3
	zidovudine	zidovudine d3
Psycholeptiques	bromazépam	bromazépam d4
	nordiazépam	nordiazépam d5
	alprazolam	diazépam d5
	diazépam	diazépam d5
	oxazépam	oxazépam d5
	lorazépam	diazépam d5
	clonazépam	diazépam d5
	méprobamate	méprobamate d3
Analgésiques	kétoprofène	kétoprofène d3
	naproxène	naproxène d3
	diclofénac	diclofénac d4
	ibuprofène	ibuprofène d3
	2-hydroxy-ibuprofène paracétamol	2-hydroxy-ibuprofène d6 paracétamol d4
Hypolipémiants	gemfibrozil	gemfibrozil d6
	bézafrate	bézafrate d6
	acide 4-chlorobenzoïque	diclofénac d4
	acide fénofibrique	acide fénofibrique d6
	acide clofibrrique	acide clofibrrique d4
	pravastatine atorvastatine	pravastatine d3 atorvastatine d5
β-bloquants	aténolol	aténolol d7
	bisoprolol	propranolol d7
	métoprolol	propranolol d7
	propranolol	propranolol d7
	sotalol	sotalol d7
	timolol	propranolol d7
	acébutolol	propranolol d7
Antidépresseurs	imipramine	amitriptyline d6
	doxépine	amitriptyline d6
	amitriptyline	amitriptyline d6
	fluoxétine	fluoxétine d5
Anticonvulsivants	primidone	primidone d5
	carbamazépine	carbamazépine d10
Antihistaminiques	cétirizine	cétirizine d8
	ranitidine	diazépam d5
Autres	clenbuterol	diazépam d5
	caféine	caféine d9
	théophylline	caféine d9
	sildénafil	sildénafil d3
	losartan	diazépam d5
	salbutamol	diazépam d5
	clopidogrel	diazépam d5

Famille	Analyte	Etalon interne associé
	terbutaline	diazépam d5
	disopyramide	diazépam d5
	caféine ¹³ C	caféine d9
	salbutamol d3	diazépam d5
	DIA d5	DEA d7
	isoproturon d6	diazépam d5

Concernant les filtres UV, l'oxybenzone est la seule molécule pour laquelle l'homologue marqué existe dans le commerce (oxybenzone d5). Des tests préliminaires ayant montré de mauvais recouvrements pour la quantification des filtres UV les plus hydrophobes par l'oxybenzone d5, des dérivés marqués de phtalates ont été utilisés. En jouant sur la longueur de la chaîne alkylée, il est possible d'approcher les coefficients de partage octanol-eau des filtres UV. Ainsi, les dihexyle phtalate (log Kow = 6,41) et diéthylhexyle phtalate (log Kow = 8,03) isotopiquement marqués, par leur hydrophobie et leur structure chimique proche, ont été utilisés pour quantifier les filtres UV. Le choix des étalons internes pour les filtres UV sera discuté dans le chapitre 3.1, section 1.4.

Le détail des calculs de quantification par étalonnage interne est donné en Annexe 8. Les formules de base, de détermination du coefficient de réponse (K_i) et de calcul de masse de composé natif (m_i) dans un échantillon sont données ci-dessous.

$$K_i = \frac{m_i}{m_e} \cdot \frac{A_e}{A_i} \qquad m_i = K_i \cdot m_e \cdot \frac{A_i}{A_e}$$

Où K_i est le coefficient de réponse de i par rapport à e , m_i et A_i la masse et l'aire de composé natif injecté, m_e et A_e la masse et l'aire d'étalon interne injecté.

5.2 Validation des résultats

Dans le cadre d'une démarche d'assurance qualité, l'obtention des résultats a fait l'objet de multiples points de contrôle.

Echantillons dopés. Lors de chaque série d'extraction, de un à trois échantillons d'eau Vittel artificiellement enrichie en composés d'intérêt sont préparés afin de calculer les rendements d'extraction de chacune des molécules. Ces résultats permettent de s'assurer qu'un composé non détecté l'est par son absence au-delà des limites de détection et non par un biais protocolaire. La prise d'essai est identique à celle des échantillons traités : 100 mL pour des eaux de STEP et 200 mL pour des eaux de rivière. Les échantillons sont dopés à 300 ng.L⁻¹ dans le cas des eaux de STEP et 100 ng.L⁻¹ dans le cas des eaux de rivière. Les rendements d'extraction de ces contrôles seront examinés dans le chapitre 3.1, section 1.2.1.

Blancs protocole. A un second niveau et afin d'éviter les faux-positifs et d'évaluer la contamination apportée par la manipulation, chaque série d'extraction a intégré un ou plusieurs « blanc protocole ». Un échantillon sans matrice est traité comme un échantillon standard et la masse des éventuels contaminants à l'état de traces est évaluée puis retranchée des échantillons.

Blancs d'injection. Au cours des injections, des blancs composés uniquement du solvant d'injection sont régulièrement injectés afin de s'assurer de la non-contamination du système analytique.

Cartes de contrôle. Les coefficients de réponse relevés lors de chaque séquence analytique sont reportés sur une carte de contrôle afin de renseigner toute dérive des solutions standards ou du système analytique. Le rapport de l'intensité de chaque analyte sur la masse injecté, présenté dans le chapitre 3.1, section 1.1.2, renseigne également sur la variabilité de la réponse et donc sur l'état du système analytique.

6 Expériences de dégradation *in-vitro*

L'impact des médicaments contenus dans les eaux usées urbaines sur un hydrosystème ne peut être appréhendé par une étude limitée à leur présence dans les effluents et dans le milieu récepteur, ce dernier présentant une réactivité propre. Il est intéressant de pouvoir préciser le rôle d'accélérateur ou d'inhibiteur du milieu récepteur vis-à-vis de la dégradation des composés associés aux effluents en différentes conditions représentatives de la variabilité des paramètres environnementaux. Pour cela, le réacteur naturel estuarien de la Gironde a été simplifié à l'échelle expérimentale et des expériences d'incubation d'eaux estuariennes mélangées à des effluents urbains ont été réalisées, le protocole ayant été adapté de Ying et Kookana (2003) et Benotti et Brownawell (2009).

Le dispositif expérimental consiste en 6 aquariums en verre de 25 L contenant les eaux à incuber dans des conditions différentes (Figure 39). Un bullage d'air continu permet d'oxygéner l'eau et de s'affranchir d'une éventuelle dégradation anaérobie des composés. L'homogénéité du système est assurée par des hélices en verre installées sur des moteurs d'agitation. L'expérience est conduite dans une pièce thermostatée (20 °C) à l'abri de la lumière (lumière éteinte) afin de s'affranchir des effets éventuels de photodégradation. Les 25 L d'eau évoluent naturellement durant les 4 semaines d'expérience, on n'opère à aucun renouvellement des eaux.

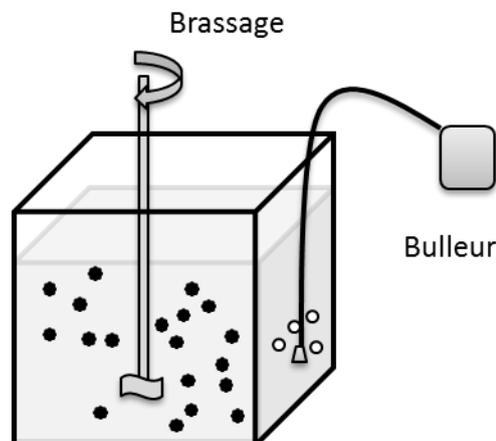


Figure 39. Schéma simplifié d'un dispositif expérimental.

Les six conditions de mélange des eaux sont présentées dans le Tableau 22. Les MES ainsi que les paramètres descripteurs pH, conductivité, oxygène dissous et température sont étudiées dans le détail au chapitre 4.5, section 4.1.1.

Tableau 22. Détail des conditions expérimentales des incubations.

Condition	Eau de STEP	Eau de Garonne	Remarques :
Aqua 1 : témoin sortie SANS bouchon vaseux	Sortie 12,5 L	Garonne Bègles surnageant après décantation 12,5 L	
Aqua 2 : sortie AVEC bouchon vaseux	Sortie 12,5 L	Garonne Bègles 12,5 L	Obj : MES 1 g.L ⁻¹ dans aqua final
Aqua 3 : sortie AVEC bouchon vaseux concentré	Sortie 12,5 L	Garonne Bègles concentré 12,5 L	Obj : MES 5 g.L ⁻¹ dans aqua final
Aqua 4 : impact eau entrée	Entrée 12,5 L	Garonne Bègles 12,5 L	
Aqua 5 : témoin abiotique	Sortie 12,5 L	Garonne Bègles 12,5 L	+ chlorure mercurique, 100 mg.L ⁻¹
Aqua 6 : dilution caractéristique d'un rejet dans l'environnement	Sortie 1/10 2,5 L	Garonne Bègles 9/10 22,5 L	+ dopage natifs à 500 ng.L ⁻¹

Les eaux de Garonne ont été prélevées à Bègles le 28 septembre 2012, au mi-jusant à turbidité maximale (supérieure à la saturation des sondes de la station Magest de Bordeaux, 9 999 NTU, soit approximativement 10 g.L⁻¹). Les eaux présentaient une salinité de 0,5. Une partie des eaux a été laissée à décanter pendant 3 jours, afin de recueillir le surnageant clair (condition 1) et un concentrât de MES (condition 3). Les eaux servant pour les autres conditions ont été maintenues homogènes par agitation magnétique sur la même durée, afin d'assurer la même ancienneté du prélèvement pour toutes les expériences.

Les eaux usées ont été prélevées le 1 octobre 2012 en entrée et sortie de la station d'épuration de Clos de Hilde.

L'aquarium 3 à fortes concentrations en particules est préparé à partir des MES décantées. Cette condition expérimentale reproduit les concentrations en particules que l'on peut obtenir en période d'étiage quand le bouchon vaseux est concentré.

L'aquarium 5 est un témoin abiotique, permettant d'étudier l'impact de l'absence des bactéries en conservant l'effet de la matière particulaire. On utilise comme poison le chlorure mercurique à 100 mg.L⁻¹ (dissolution de 2,5 g de HgCl₂ dans un petit volume d'effluent puis ajout aux 25 L de l'aquarium). Fitzhugh *et al.* (2003) ainsi que Wolf *et al.* (1989) ont montré que le chlorure mercurique était adapté à la stérilisation à long terme pour l'analyse des nutriments dans des sols, altérant peu la matière organique du sol. Wang *et al.* (2011) ont également donné la préférence au chlorure mercurique plutôt qu'à l'autoclavage pour l'analyse de HAP dans les sols, aucun micro-organisme n'ayant été détecté sur une incubation de 113 jours. C'est également une technique appliquée à l'eau de mer (Kattner, 1999). En revanche, Reddy *et al.* (2005) ont montré que le chlorure

mercurique n'affectait pas l'activité enzymatique, en particulier des glucuronidases. Les résultats des expériences de déconjugaison, présentés dans le chapitre 3.1, section 1.6, indiquent que les molécules glucuro-conjuguées sont *a priori* absentes des effluents utilisés ici. Les concentrations préconisées dans ces études sont de l'ordre de 100 mg.L^{-1} , donc vraisemblablement adaptées aux expériences réalisées.

L'aquarium 6 permet de se placer dans des conditions d'un rejet de STEP en milieu environnemental avec une dilution d'un facteur 10. Afin de s'éloigner des limites de détection dans ces conditions de dilution, on sur-dope les eaux sur une sélection de molécules choisies parmi des labiles (ibuprofène, abacavir, acide fénofibrique, paracétamol) et des réfractaires (naproxène, sotalol, carbamazépine), déterminées à partir des rendements d'épuration mesurés en STEP (*cf.* chapitre 4.1, section 1.3.2).

Les aquariums sont échantillonnés au temps initial (T0) puis après 7, 14, 21 et 28 jours. Les échantillons sont filtrés sur filtres GF/F selon le protocole de filtration des échantillons naturels détaillé en section 3.2.1 de ce chapitre. La phase particulaire est conservée et la phase dissoute est analysée en triplicat, suivant les protocoles présentés en sections 3.3 et 3.2.2 de ce chapitre, respectivement.

Chapitre 3 : Validation des méthodes

Chapitre 3.1 : Développements et validations méthodologiques

1.1	Performances machine.....	129
1.1.1	Linéarité.....	129
1.1.2	Sensibilité	130
1.1.3	Répétabilité et robustesse.....	134
1.2	Protocole SPE.....	140
1.2.1	Rendements d'extraction moyens	140
1.2.2	Validation des limites de détection.....	144
1.2.3	Volume de fuite	146
1.2.4	Etude des pertes dues aux étapes préparatives	150
1.2.5	Effet de matrice	151
1.3	Autres protocoles d'extraction.....	157
1.3.1	Extraction des matrices solides	157
1.3.2	Extraction de la phase réceptrice des POCIS.....	161
1.4	Nécessité d'usage d'étalons internes adaptés	164
1.5	Validation des étapes préparatives préalables	168
1.5.1	Conservation de l'échantillon.....	168
1.5.2	Filtration	172
1.5.3	Méthode de prélèvement	173
1.6	Cas des formes conjuguées dans les effluents.....	174
1.6.1	Validation de la méthode	175
1.6.2	Application à des effluents de STEP	177
1.7	Conclusions.....	180

1 Développements et validations méthodologiques

De l'échantillonnage d'un système à la quantification des échantillons, de nombreuses étapes sont nécessaires pour permettre son analyse. Ces étapes ne doivent pas affecter la composition de l'échantillon ou, à défaut, sa juste quantification. Dans cette partie, les performances des différentes étapes des protocoles analytiques vont être évaluées, « de l'aval vers l'amont », c'est-à-dire des aspects instrumentaux au prélèvement.

1.1 Performances machine

1.1.1 Linéarité

Médicaments

La linéarité de la réponse analytique a été testée sur des triplicats de solutions étalons à 8 niveaux de concentration, de 0,12 ng.g⁻¹ à 1500 ng.g⁻¹ de solvant, soit une masse injectée de 0,4 à 6000 pg. Selon la sensibilité de la réponse, de 5 à 8 points ont été utilisés pour cette évaluation (Tableau 23). L'ordonnée à l'origine a été forcée à 0 dans la régression linéaire par la méthode des moindres carrés. La pente exprime l'aire de 5 µL injectés en fonction de la concentration massique en ng.g⁻¹.

Tableau 23. Bilan des tests de linéarité sur les médicaments. Les molécules analysées en mode d'ionisation négatif sont présentés en italique. s est l'écart-type sur la pente. L'hydroxy-ibuprofène, l'acide fénofibrique, l'atorvastatine, l'acébutolol, le sildénafil, le losartan et le clopidogrel sont absents du tableau car ils n'ont été introduits qu'ultérieurement.

Composé	pente	s	coefficient de détermination	Composé	pente	s	coefficient de détermination
abacavir	78	1,6	0,9973	<i>ac. 4-chlorobenzoïque</i>	328	4,0	0,9993
indinavir	620	1,7	1,0000	<i>acide clofibrique</i>	1091	8,8	0,9996
lamivudine	151	6,5	0,9891	<i>pravastatine</i>	179	4,1	0,9974
nelfinavir	480	1,8	0,9999	aténolol	31	0,5	0,9989
névirapine	184	0,7	0,9999	bisoprolol	681	5,7	0,9996
ritonavir	127	1,0	0,9996	métoprolol	64	0,3	0,9999
saquinavir	309	0,9	0,9999	propranolol	164	0,8	0,9999
<i>zidovudine</i>	60	1,7	0,9968	sotalol	85	1,1	0,9993
bromazépam	89	0,6	0,9997	timolol	132	1,3	0,9994
nordiazépam	186	1,2	0,9997	imipramine	580	1,8	0,9999
alprazolam	152	1,2	0,9996	doxépine	285	1,0	0,9999
diazépam	212	1,1	0,9999	amitriptyline	211	1,4	0,9997
oxazépam	257	1,1	0,9999	fluoxétine	132	2,2	0,9984
lorazépam	133	0,5	0,9999	primidone	69	0,3	0,9999
clonazépam	147	1,7	0,9992	carbamazépine	242	2,3	0,9994
méprobamate	137	0,9	0,9998	cétirizine	689	6,0	0,9995
<i>kétoprofène</i>	528	2,7	0,9999	ranitidine	73	1,3	0,9984
<i>naproxène</i>	277	1,5	0,9998	clenbuterol	291	0,9	0,9999
<i>diclofénac</i>	549	1,7	0,9999	caféine	72	2,4	0,9943
<i>ibuprofène</i>	103	1,7	0,9989	théophylline	18	0,0	1,0000
paracétamol	21	0,2	0,9996	salbutamol	108	2,0	0,9986
<i>gemfibrozil</i>	897	2,3	1,0000	terbutaline	97	1,4	0,9990
bézafigrate	136	2,2	0,9985	disopyramide	983	16,8	0,9980

Pour l'ensemble des composés, l'étalonnage présente une bonne linéarité sur l'intégralité de la gamme testée, avec des coefficients de détermination supérieurs à 0,98. Les cinq molécules qui ont la réponse la plus intense sont l'acide clofibrique, le disopyramide, le gemfibrozil, la cétirizine et le bisoprolol. *A contrario*, la théophylline, le paracétamol, l'aténolol, la zidovudine et la primidone sont les cinq molécules qui ont la plus faible réponse.

Filtres UV

La linéarité des analytes a été testée en triplicat sur des solutions étalons à 7 niveaux de concentration, de 0,05 ng.g⁻¹ à 200 ng.g⁻¹ de solvant, soit une masse injectée de 0,2 à 800 pg. De 4 à 7 points ont permis l'évaluation de la linéarité. Les résultats sont présentés dans le Tableau 24.

Tableau 24. Bilan des tests de linéarité sur les filtres UV. s est l'écart-type sur la pente.

Composé	pente	s	coefficient de détermination
oxybenzone	60	0,4	0,9998
avobenzone	547	2,5	0,9999
EHMC	224	2,7	0,9996
ODPABA	7124	21,5	1,0000
4-MBC	56	0,3	0,9999
octocrylène	48	0,7	0,9993

Pour les six molécules étudiées, les étalonnages sont linéaires sur le domaine testé, avec des coefficients de détermination supérieurs à 0,999. L'ODPABA est la molécule présentant la plus forte réponse, l'octocrylène la plus faible.

1.1.2 Sensibilité

Médicaments

Les limites de détection et de quantification ont été calculées par extrapolation à partir du point de bas de gamme pour chaque composé. La limite de détection en masse injectée correspond à un rapport signal sur bruit (S/N) égal à 3, la limite de quantification 10. La zone de bruit considérée dure 0,2 min et commence 0,4 min avant le pic. La méthode de détermination du rapport signal sur bruit est en « peak to peak » soit la plus sévère puisque c'est la hauteur maximale du bruit de fond qui est considérée. Les résultats sont présentés dans le Tableau 25.

Tableau 25. Limites de détection et de quantification obtenues pour les médicaments, calculées par extrapolation à partir du point de bas de gamme pour chaque composé. Les traceurs PRC (approche POCIS) sont également renseignés.

Composé	LD	LQ	Composé	LD	LQ
	pg injectés	pg injectés		pg injectés	pg injectés
abacavir	0,2	0,8	aténolol	0,6	2,0
indinavir	1,6	5,3	bisoprolol	0,3	1,0
lamivudine	0,2	0,6	métoprolol	0,6	1,8

Composé	LD pg injectés	LQ pg injectés	Composé	LD pg injectés	LQ pg injectés
nelfinavir	0,5	1,6	propranolol	0,9	3,0
névirapine	0,3	0,9	sotalol	2,0	6,6
ritonavir	3,0	10,0	timolol	0,2	0,8
saquinavir	2,3	7,7	acébutolol	0,2	0,5
zidovudine	2,2	7,3	imipramine	0,6	1,9
bromazépam	0,7	2,4	doxépine	0,8	2,7
nordiazépam	0,4	1,2	amitriptyline	0,2	0,8
alprazolam	0,4	1,2	fluoxétine	0,2	0,8
diazépam	0,4	1,2	primidone	4,6	15,5
oxazépam	1,0	3,2	carbamazépine	1,3	4,3
lorazépam	0,9	3,0	cétirizine	0,1	0,5
clonazépam	0,5	1,7	ranitidine	0,7	2,4
méprobamate	2,9	9,5	clenbuterol	0,2	0,7
kétoprofène	2,3	7,8	caféine	8,4	27,9
naproxène	0,9	3,1	théophylline	3,2	10,7
diclofénac	0,9	3,0	sildénafil	1,1	3,7
ibuprofène	7,0	23,4	losartan	0,2	0,6
hydroxy-ibuprofène	5,4	17,9	salbutamol	0,2	0,6
paracétamol	8,9	29,6	clopidogrel	0,9	3,1
gemfibrozil	0,4	1,3	terbutaline	0,3	1,0
bézafrate	0,6	2,1	disopyramide	0,1	0,2
ac. 4-chlorobenzoïque	8,9	29,5	caféine 13C	2,8	9,4
acide fénofibrique	0,2	0,8	salbutamol d3	0,2	0,5
acide clofibrique	0,4	1,2	DIA d5	1,6	5,4
pravastatine	2,5	8,4	isoproturon d6	1,7	5,6
atorvastatine	0,5	1,8			

Plus de la moitié des limites de quantification sont inférieures à 3 pg injectés (Figure 40) alors que seules 8 molécules ont une limite de quantification supérieure à 10 pg injectés (ritonavir, ibuprofène, hydroxy-ibuprofène, paracétamol, acide 4-chlorobenzoïque, primidone, caféine et théophylline).

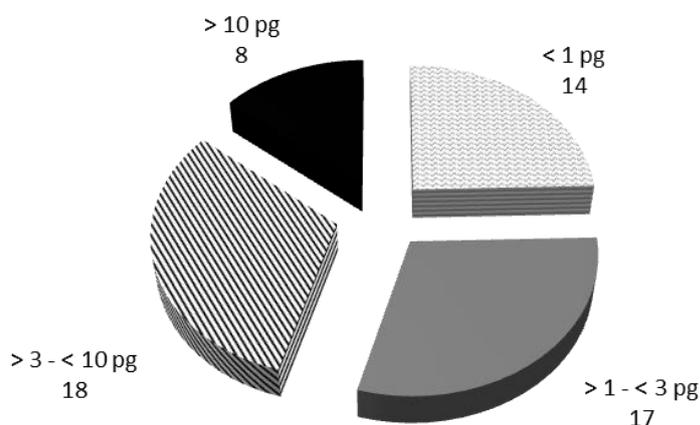


Figure 40. Répartition des molécules par gamme de limites de quantification (pg injectés). Le nombre de molécules concernées est indiqué dans chaque étiquette.

En appliquant le protocole SPE médicaments décrit dans le chapitre 2, section 3.2, pour une prise d'essai de 200 mL (cas des eaux de Garonne) et un rendement d'extraction de 100 %, on calcule que 49 molécules sur 57 ont des LQ théoriques dans l'eau inférieures à 3 ng.L^{-1} et, pour 14 d'entre elles, inférieures à $0,3 \text{ ng.L}^{-1}$ (le détail par molécule est donné en section 1.2.2 de ce chapitre). Ces performances machine sont en adéquation avec les concentrations attendues dans le milieu, ce qui a été confirmé par application de l'ensemble du traitement préparatif de l'échantillon, détaillée en section 1.2.2 de ce chapitre. Néanmoins, l'effet de la matrice sur la sensibilité doit être approfondi et fait l'objet de la section 1.2.5 de ce chapitre.

La répétabilité de l'intensité de la réponse instrumentale au cours de l'ensemble de ces travaux peut également être évaluée. Pour cela, la réponse de chaque analyte sur l'ensemble des analyses de solution de contrôle de ces travaux (solutions permettant de déterminer les coefficients de réponse au début de chaque séquence d'analyse, cf. section 1.1.3 de ce chapitre) est normalisée par la masse injectée (réponse normalisée). La Figure 41 donne cette réponse normalisée rapportée à la moyenne, en pourcentage. Sur l'ensemble de ces travaux, les réponses sont peu variables puisque comprises entre 50 % et 200 % de la réponse moyenne. Seule l'atorvastatine est relativement variable, avec des réponses variant entre 10 et 190 % de la réponse moyenne. Ces résultats ne peuvent pas être directement extrapolés à la variabilité des limites de détection et de quantification puisqu'ils ne prennent pas en compte une éventuelle variabilité du bruit de fond mais traduisent une bonne stabilité de la réponse instrumentale sur les deux années d'analyses.

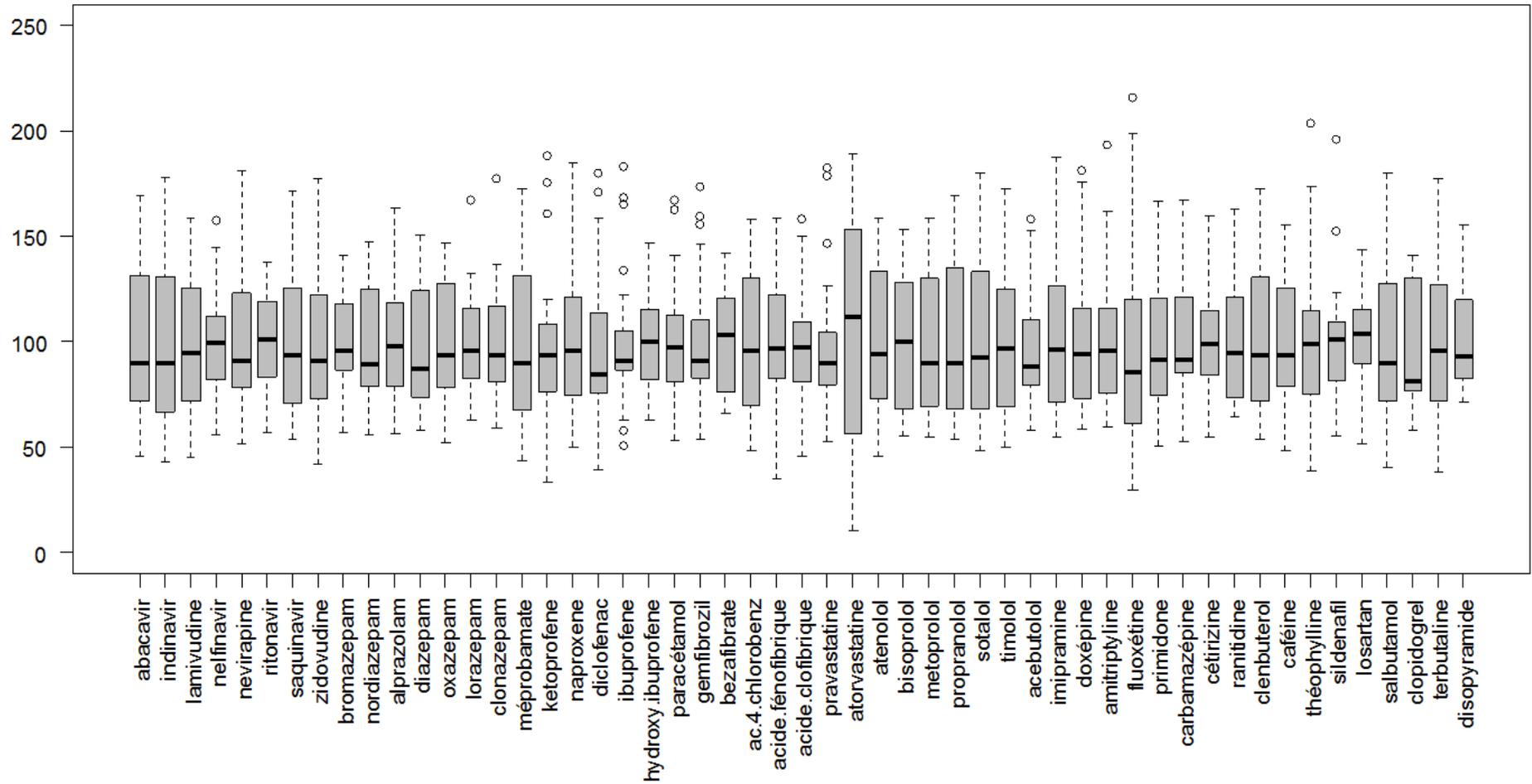


Figure 41. Variabilité de la réponse instrumentale, calculée comme la réponse de chaque analyte, normalisée par la quantité injectée et rapportée à la réponse normalisée moyenne (en pourcentage). Le nombre de mesure est de 42 pour les molécules analysées en mode d'ionisation ESI+ et 41 pour celles analysées en ESI-. Des précisions sur l'interprétation des boîtes à moustaches sont données en Annexe 9.

Filtres UV

Dans le cas du protocole filtres UV, les sensibilités sont déterminées par extrapolation du rapport signal sur bruit selon la méthode précédente lorsque les analytes sont en concentrations négligeables dans les blancs d'injection. Dans le cas d'un composé présentant un blanc détectable et significatif (avobenzone, EHMC, octocrylène), on prend comme limite de détection trois fois la variabilité du blanc analytique. Les limites obtenues sont présentées dans le Tableau 26. Les limites de quantification extrapolées à un échantillon d'eau extrait par SPE, pour une prise d'essai de 200 mL (cas des eaux de Garonne) et un rendement d'extraction de 100 % sont données dans la colonne LQ extrapolée.

Tableau 26. Limites de détection et de quantification instrumentales obtenues pour les filtres UV. avobenzone, EHMC et octocrylène sont détectés dans les blancs d'injection.

Composé	LD pg injectés	LQ pg injectés	LQ extrapolée ng.L ⁻¹
oxybenzone	1	3	1
avobenzone	1,5	4	1
EHMC	2,5	6	2
ODPABA	0,04	0,1	0,03
4-MBC	1,5	4	1
octocrylène	3	8	3

1.1.3 Répétabilité et robustesse

Médicaments

Dans un premier temps, la répétabilité a été déterminée sur 10 injections successives d'une même solution étalon contenant les analytes à la concentration de 15 ng.g⁻¹, soit une masse injectée de 60 pg. Le coefficient de variation, ou écart-type relatif, a été déterminé pour chacune des molécules. Les résultats sont présentés dans le Tableau 27.

Tableau 27. Bilan du test de répétabilité sur les médicaments pour 10 injections. L'hydroxy-ibuprofène, l'acide fénofibrique, l'atorvastatine, l'acébutolol, le sildénafil, le losartan et le clopidogrel sont absents du tableau car ils n'ont été introduits qu'ultérieurement.

Composé	Ecart-type relatif (%)	Composé	Ecart-type relatif (%)
abacavir	8	ac. 4- chlorobenzoïque	9
indinavir	6	acide clofibrique	3
lamivudine	4	pravastatine	8
nelfinavir	2	aténolol	8
névirapine	7	bisoprolol	5
ritonavir	2	métoprolol	7
saquinavir	3	propranolol	5
zidovudine	17	sotalol	19
bromazépam	9	timolol	10
nordiazépam	2	imipramine	4
alprazolam	3	doxépine	3
diazépam	2	amitriptyline	2

oxazépam	6	fluoxétine	7
lorazépam	5	primidone	8
clonazépam	6	carbamazépine	4
méprobamate	6	cétirizine	7
kétoprofène	2	ranitidine	14
naproxène	5	clenbuterol	6
diclofénac	7	caféine	20
ibuprofène	9	théophylline	9
paracétamol	27	salbutamol	24
gemfibrozil	2	terbutaline	17
bézafigurate	5	disopyramide	4

Sur les 46 molécules testées, 39 présentent une bonne répétabilité avec un écart-type relatif inférieur à 10 %. Les 7 autres (zidovudine, paracétamol, sotalol, ranitidine, caféine, salbutamol et terbutaline) ne dépassent pas 27 % de variabilité. Il faut noter que ces dernières molécules ont un temps de rétention faible en chromatographie : ils donc sont peu retenus et de ce fait sont sujets à des déformations de pics.

La robustesse globale associée à la machine, aux solutions étalons de natifs et à celles d'étalons internes a pu être évaluée par le contrôle des coefficients de réponse d'un analyte par rapport à son étalon interne sur l'ensemble des travaux de thèse. Le calcul du coefficient de réponse est précisé dans le chapitre 2, section 5.1. Le Tableau 28 présente les valeurs moyennes et l'écart-type relatif associés à ce contrôle et la Figure 42 les valeurs et la dispersion rencontrées par molécule. Afin d'écarter les éventuels biais consécutifs aux optimisations de protocole, seuls les coefficients de réponse déterminés avec l'étalon interne adapté ont été présentés.

Tableau 28. Bilan des variabilités rencontrées sur les coefficients de réponse. Le nombre de mesure est précisé dans la Figure 42 (10 à 42 selon les analytes).

Composé	Etalon interne	Coefficient de réponse	Ecart-type relatif (%)
abacavir	abacavir d4	2,8	10
indinavir	indinavir d6	0,3	131
lamivudine	lamivudine ¹⁵ N2- ¹³ C	0,5	13
nelfinavir	névirapine d3	0,4	32
névirapine	névirapine d3	1,1	8
ritonavir	névirapine d3	1,8	32
saquinavir	névirapine d3	1,0	21
zidovudine	zidovudine d3	0,5	40
bromazépam	bromazépam d4	0,9	6
nordiazépam	nordiazépam d5	0,5	24
alprazolam	diazépam d5	1,3	20
diazépam	diazépam d5	0,9	17
oxazépam	oxazépam d5	0,7	11
lorazépam	diazépam d5	1,4	6
clonazépam	diazépam d5	1,3	16
méprobamate	méprobamate d3	0,8	8
kétoprofène	kétoprofène d3	1,0	14
naproxène	naproxène d3	1,0	10

Composé	Etalon interne	Coefficient de réponse	Ecart-type relatif (%)
diclofénac	diclofénac d4	0,9	16
ibuprofène	ibuprofène d3	1,4	6
hydroxy-ibuprofène	OH ibuprofène d6	0,7	5
paracétamol	paracétamol d4	1,0	25
gemfibrozil	gemfibrozil d6	1,1	9
bézafrabrate	bézafrabrate d6	1,1	5
ac. 4-chlorobenzoïque	diclofénac d4	1,9	42
acide fénofibrique	acide fénofibrique d6	0,5	10
acide clofibrique	acide clofibrique d4	1,0	8
pravastatine	pravastatine d3	1,7	26
atorvastatine	atorvastatine d5	0,7	25
aténolol	aténolol d7	0,8	10
bisoprolol	propranolol d7	0,1	17
métoprolol	propranolol d7	0,9	15
propranolol	propranolol d7	0,7	24
sotalol	sotalol d7	0,7	4
timolol	propranolol d7	0,3	19
acébutolol	propranolol d7	0,2	24
imipramine	amitriptyline d6	0,3	18
doxépine	amitriptyline d6	0,6	33
amitriptyline	amitriptyline d6	0,8	31
fluoxétine	fluoxétine d5	2,9	40
primidone	primidone d5	0,5	22
carbamazépine	carbamazépine d10	0,8	11
cétirizine	cétirizine d8	0,7	9
ranitidine	diazépam d5	0,7	48
clenbuterol	diazépam d5	0,4	30
caféine	caféine d9	0,7	7
théophylline	caféine d9	0,9	11
sildénafil	sildénafil d3	1,1	32
losartan	diazépam d5	0,5	36
salbutamol	diazépam d5	0,5	13
clopidogrel	diazépam d5	0,2	31
terbutaline	diazépam d5	0,4	34
disopyramide	diazépam d5	0,1	45

L'écart-type relatif est inférieur à 20 % pour 29 molécules sur les 53 et une seule molécule (indinavir) présente une variabilité de plus de 50 %.

L'exemple de la fluoxétine, ayant des coefficients de réponse de 1,4 à 5,5, bien que quantifiée par son homologue deutéré, rappelle la nécessité d'un étalonnage systématique avant toute séquence d'analyse.

Un échantillon pseudo-inconnu, correspondant à l'injection de 400 pg d'analyte, est analysé après chaque échantillon de détermination des coefficients de réponse et permet de calculer le rendement de quantification. L'ensemble des rendements de quantification obtenus au cours de ces travaux de

thèse est présenté Figure 43. L'espace interquartile est faible, compris entre 90 et 110 % pour l'ensemble des composés, validant les coefficients de réponse calculés au préalable. La fluoxétine, au coefficient de réponse variable, est systématiquement quantifiée avec un très bon rendement, de 95 à 105 %. L'étalonnage conduit systématiquement avant toute séquence d'analyse assure donc une quantification fidèle, validant les performances instrumentales.

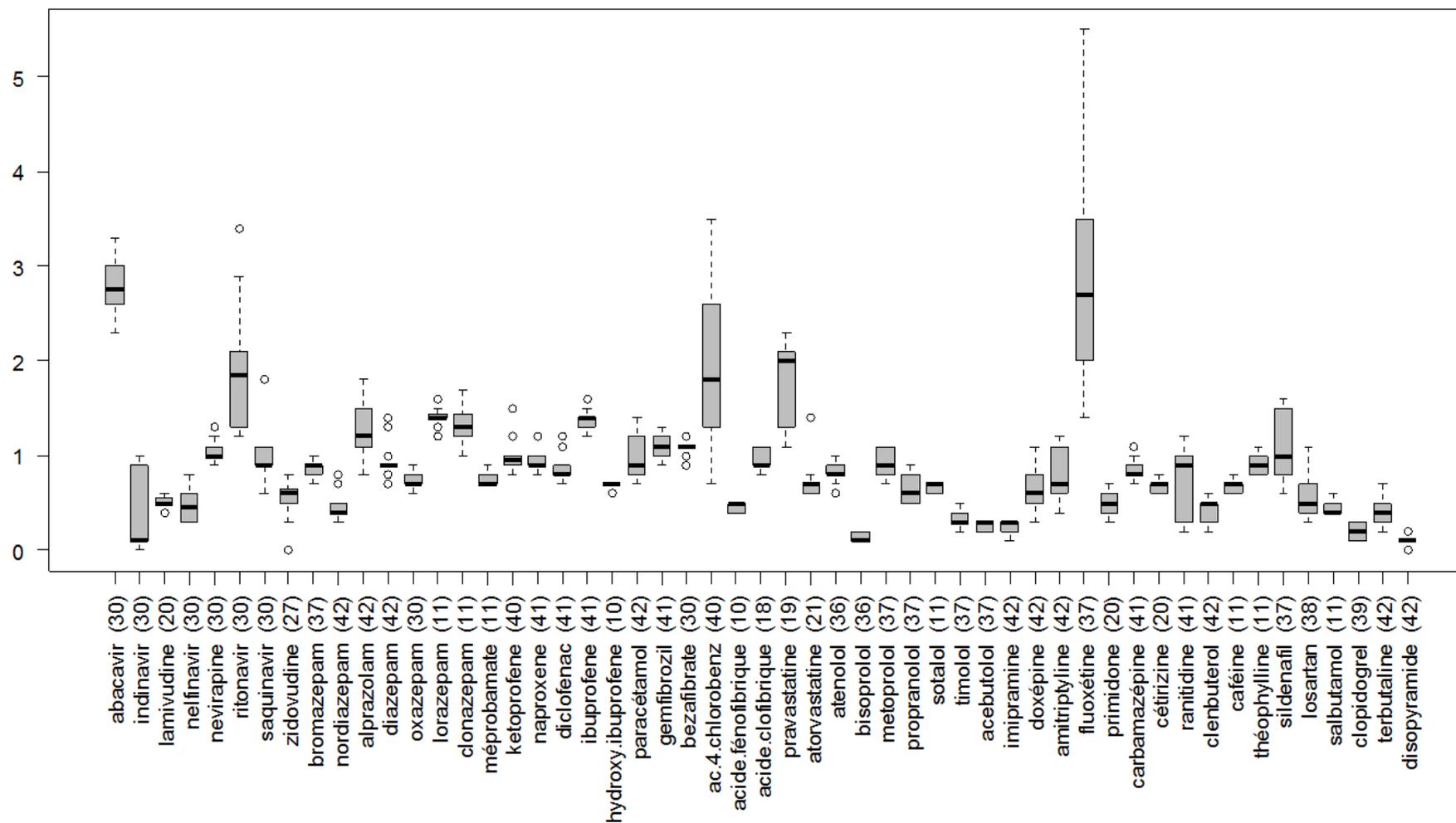


Figure 42. Coefficients de réponse par rapport à l'étalon interne adapté sur l'ensemble des travaux de thèse. Le nombre de mesures associées à chaque molécule est précisé entre parenthèses.

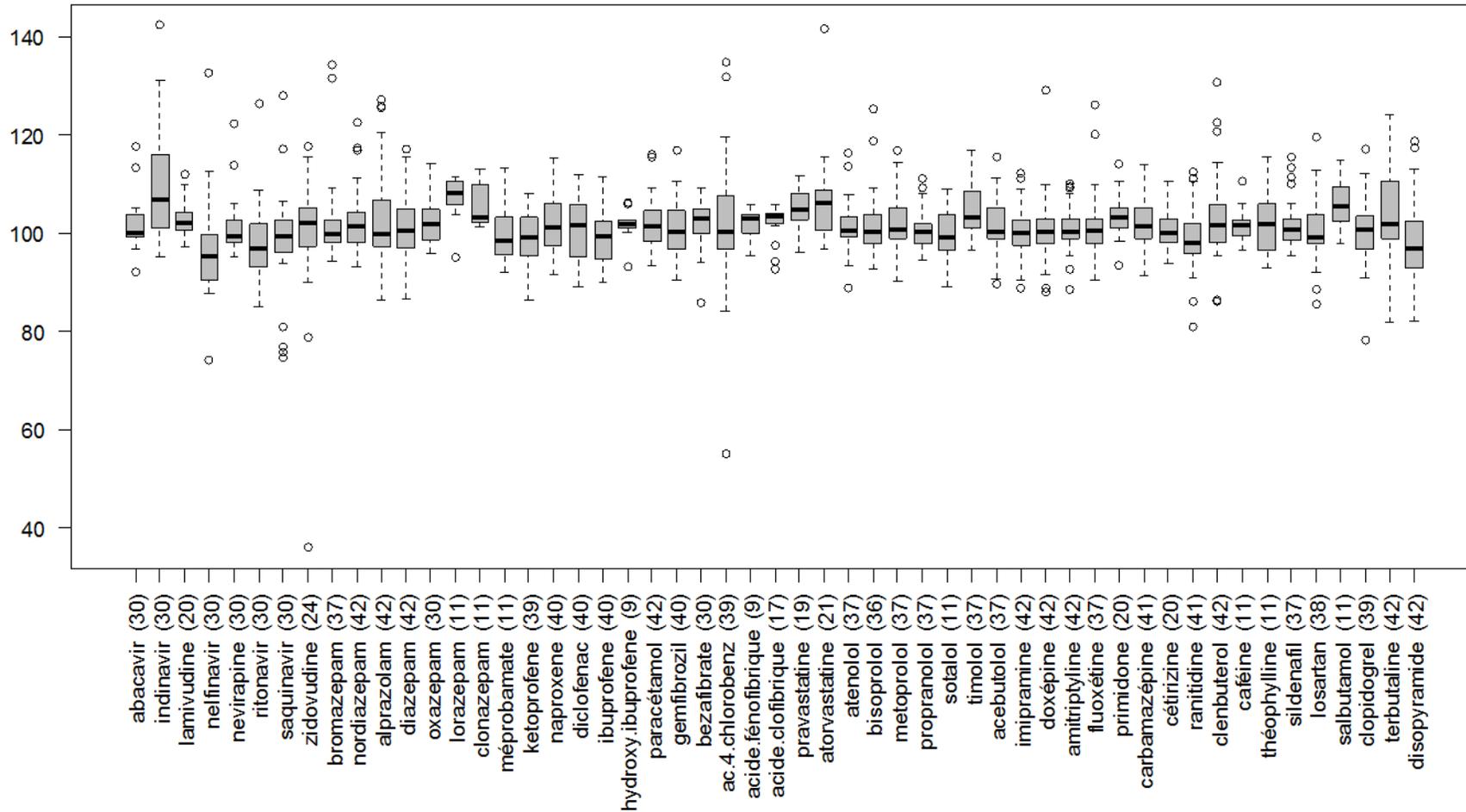


Figure 43. Rendements de quantification en pourcentage, calculés à partir des coefficients de réponse, par rapport à l'étalon interne adapté sur l'ensemble des travaux de thèse. Le nombre de mesures associées à chaque molécule est précisé entre parenthèses.

Filtres UV

La répétabilité instrumentale a été testée en 3 injections successives d'une même solution étalon à 150 ng.g⁻¹, soit une masse injectée de 600 pg (Tableau 29).

Tableau 29. Bilan du test de répétabilité instrumentale pour les filtres UV. n=3.

Composé	Ecart-type relatif (%)
Oxybenzone	3
Avobenzone	2
EHMC	4
ODPABA	2
4-MBC	2
Octocrylène	5

La variabilité, inférieure à 5 %, est considérée comme faible et valide la répétabilité de la méthode analytique.

1.2 Protocole SPE

La validation du protocole d'extraction par SPE passe dans un premier temps par l'évaluation des rendements d'extraction, indicateur qualifiant l'aptitude du protocole à quantifier avec justesse les analytes contenus dans une prise d'essai initiale. L'étude des influences de chaque étape préparative et de la matrice seront examinées dans un second temps.

1.2.1 Rendements d'extraction moyens

Les rendements d'extraction moyens calculés sur la totalité des échantillons enrichis artificiellement au cours du présent travail (aussi appelés dopages, cf. chapitre 2, section 5.2) sont résumés dans le Tableau 30. Ils correspondent à l'extraction de 100 ou 200 mL d'eau, le volume extrait n'ayant pas montré d'incidence sur les valeurs de rendement.

Tableau 30. Rendements d'extraction sur échantillons dopés. Le volume extrait est de 100 ou 200 mL. La colonne « % valeur [80,120] » correspond au pourcentage de rendements mesurés dans un intervalle de 80 % à 120 % parmi les « n » mesures indiquées dans la colonne n=.

Composé	EI adapté	Ensemble des mesures			Restriction aux EI adaptés		
		Rendement moyen	n=	% valeur [80,120]	Rendement moyen	n=	% valeur [80,120]
abacavir	abacavir d4	97 ± 18	63	87	104 ± 8	51	98
indinavir	indinavir d6	78 ± 36	60	45	87 ± 34	48	63
lamivudine	lamivudine ¹⁵ N2- ¹³ C	72 ± 47	60	58	107 ± 11	36	97
nelfinavir	névirapine d3	89 ± 43	63	49	92 ± 42	51	57
névirapine	névirapine d3	108 ± 15	63	90	104 ± 8	51	100
ritonavir	névirapine d3	103 ± 62	63	38	111 ± 67	51	54
saquinavir	névirapine d3	96 ± 42	63	43	102 ± 42	51	51
zidovudine	zidovudine d3	97 ± 31	59	51	105 ± 23	45	73

Composé	EI adapté	Ensemble des mesures			Restriction aux EI adaptés		
		Rendement moyen	n=	% valeur [80,120]	Rendement moyen	n=	% valeur [80,120]
bromazépam	bromazépam d4	102 ± 14	67	94	104 ± 13	62	95
nordiazépam	nordiazépam d5	105 ± 13	68	88	105 ± 13	68	88
alprazolam	diazépam d5	90 ± 22	68	63	90 ± 22	68	63
diazépam	diazépam d5	106 ± 11	68	94	106 ± 11	68	94
oxazépam	oxazépam d5	103 ± 10	63	94	104 ± 7	51	99
lorazépam	diazépam d5	96 ± 18	63	75	95 ± 15	22	94
clonazépam	diazépam d5	96 ± 11	63	94	98 ± 9	22	99
méprobamate	méprobamate d3	89 ± 18	63	71	102 ± 5	22	100
kétoprofène	kétoprofène d3	112 ± 13	66	83	112 ± 13	64	84
naproxène	naproxène d3	105 ± 9	66	92	105 ± 9	66	92
diclofénac	diclofénac d4	105 ± 11	66	92	105 ± 11	66	92
ibuprofène	ibuprofène d3	105 ± 9	66	92	105 ± 9	66	92
hydroxy-ibuprofène	OH ibuprofène d6	92 ± 29	49	70	104 ± 11	20	98
paracétamol	paracétamol d4	109 ± 22	68	76	109 ± 22	68	76
gemfibrozil	gemfibrozil d6	105 ± 11	66	88	105 ± 11	66	88
bézafrate	bézafrate d6	96 ± 24	63	83	105 ± 8	51	97
ac. 4-chlorobenzoïque	diclofénac d4	51 ± 30	60	21	51 ± 30	60	23
acide fénofibrique	acide fénofibrique d6	92 ± 23	50	52	113 ± 8	20	94
acide clofibrique	acide clofibrique d4	91 ± 29	61	69	108 ± 8	35	98
pravastatine	pravastatine d3	64 ± 46	51	46	102 ± 15	32	90
atorvastatine	atorvastatine d5	73 ± 50	43	50	92 ± 38	33	79
aténolol	aténolol d7	107 ± 13	62	90	107 ± 13	62	91
bisoprolol	propranolol d7	102 ± 26	63	75	102 ± 26	62	78
métoprolol	propranolol d7	108 ± 33	63	75	108 ± 33	63	76
propranolol	propranolol d7	103 ± 9	63	98	103 ± 9	63	99
sotalol	sotalol d7	99 ± 22	63	89	107 ± 13	22	99
timolol	propranolol d7	83 ± 20	63	62	83 ± 20	63	65
acébutolol	propranolol d7	100 ± 20	52	73	100 ± 20	52	75
imipramine	amitriptyline d6	97 ± 10	68	94	97 ± 10	68	94
doxépine	amitriptyline d6	100 ± 12	68	90	100 ± 12	68	90
amitriptyline	amitriptyline d6	105 ± 9	68	97	105 ± 9	68	97
fluoxétine	fluoxétine d5	110 ± 28	68	69	112 ± 29	63	71
primidone	primidone d5	92 ± 28	63	48	111 ± 11	39	85
carbamazépine	carbamazépine d10	104 ± 9	68	96	104 ± 9	67	96
cétirizine	cétirizine d8	83 ± 34	63	68	104 ± 9	39	99
ranitidine	diazépam d5	34 ± 24	55	3	34 ± 23	54	5
clenbuterol	diazépam d5	89 ± 21	68	54	89 ± 21	68	54
caféine	caféine d9	106 ± 75	65	65	109 ± 13	22	93
théophylline	caféine d9	73 ± 39	66	38	81 ± 23	22	93
sildénafil	sildénafil d3	102 ± 8	52	98	102 ± 8	52	98
losartan	diazépam d5	68 ± 25	52	38	68 ± 25	51	41
salbutamol	diazépam d5	89 ± 33	68	57	46 ± 14	22	68
clopidogrel	diazépam d5	100 ± 13	52	90	100 ± 13	52	90
terbutaline	diazépam d5	42 ± 25	68	9	42 ± 25	68	9
disopyramide	diazépam d5	106 ± 24	63	78	106 ± 24	63	78

Sur l'ensemble des molécules, 44 présentent des rendements moyens de 80 à 120 %. En considérant uniquement les contrôles réalisés avec utilisation des étalons internes adaptés, entrent dans cette fourchette non seulement un plus grand nombre de molécules (48) mais aussi un plus grand nombre de mesures par molécule (colonne « % valeur [80,120] »). L'optimisation progressive du protocole par utilisation d'un plus grand nombre d'étalons internes a donc accru les performances de la méthode en améliorant à la fois la reproductibilité et la justesse.

La présentation graphique des rendements d'extraction avec les étalons internes adaptés est donnée Figure 44. L'espace interquartile dépasse 30 % pour 7 molécules (indinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir, acide 4-chlorobenzoïque, ranitidine, terbutaline). A l'exception de l'indinavir, il s'agit de molécules ne possédant pas leur homologue marqué et donc affectées par une plus grande variabilité analytique. Dans le cas de l'indinavir, une forte variabilité a déjà été évoquée pour les coefficients de réponse (cf. section 1.1.3 de ce chapitre). L'hypothèse de solutions évoluant rapidement n'est pas à exclure. Gómez *et al.* (2006) ont déjà reporté de faibles rendements lors de l'extraction de la ranitidine, attribués à sa forte hydrophilie à pH 2 ($\log D = -3,6$). Un pH plus élevé serait vraisemblablement plus adapté pour l'extraction de cette molécule.

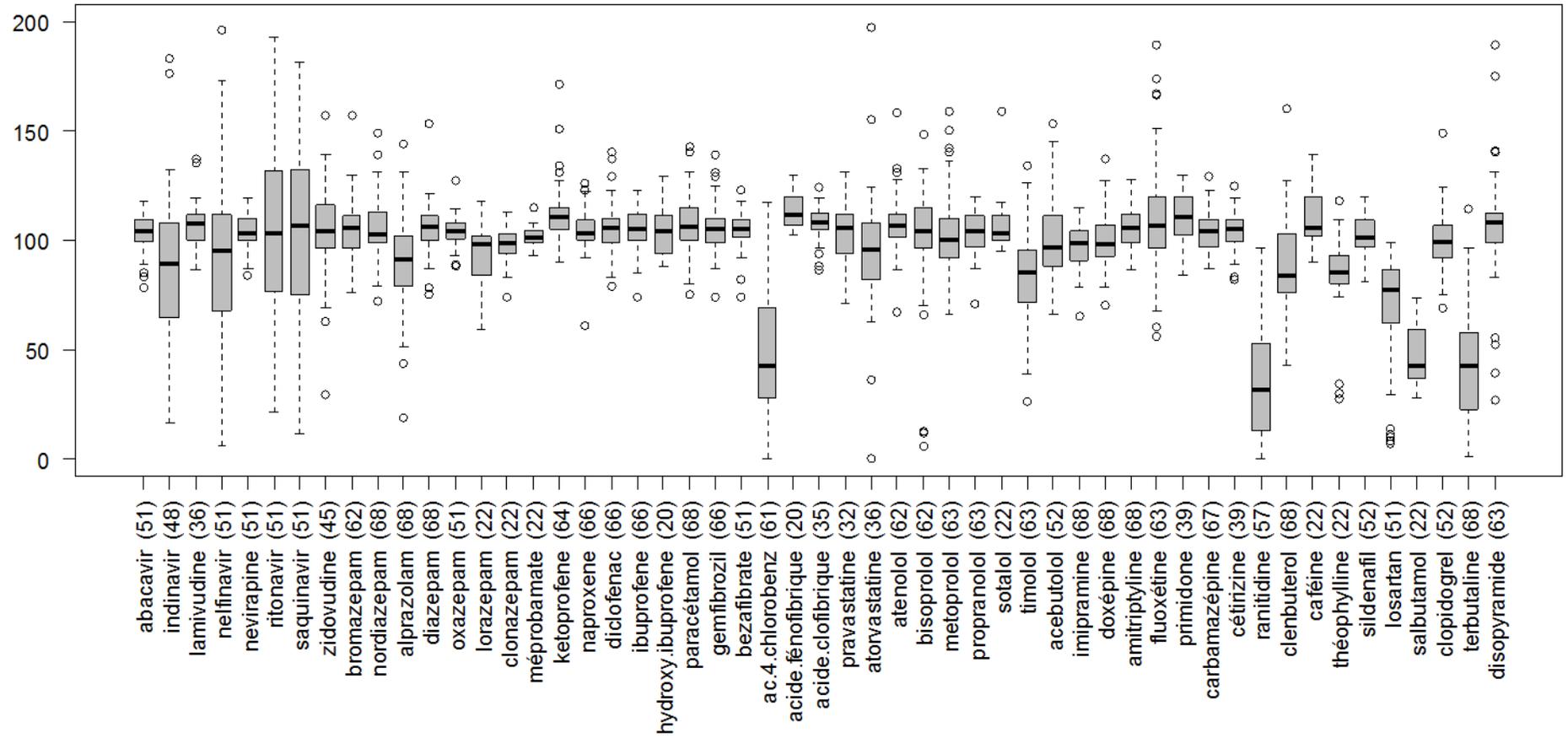


Figure 44. Rendements obtenus dans le cadre des travaux de thèse avec quantification par l'étalon interne adapté (précisé dans le Tableau 30) pour un volume d'eau extrait de 100 ou 200 mL. Le nombre de mesures est indiqué entre parenthèses.

1.2.2 Validation des limites de détection

Afin de confirmer les limites de quantification théoriques extrapolées à partir des performances instrumentales (cf. section 1.1.2 de ce chapitre), 100 mL d'échantillons dopés à 1 et 10 ng.L⁻¹ sont extraits en triplicat. Les limites de quantification pour cette expérience sont comparées aux LQ calculées par extrapolation des performances instrumentales, en considérant la reconcentration de 100 mL d'eau dans 300 µL d'extrait final (Tableau 31).

Tableau 31. Limites de quantification sur échantillons extraits (prise d'essai 100 mL) et rapport des limites de quantification avec extraction par rapport aux limites de quantification théoriques machine. n=3.

Composé	LQ instrumentale extrapolée ng.L ⁻¹	LQ SPE ng.L ⁻¹	Facteur d'augmentation LQ SPE / LQ instrumentale extrapolée
abacavir	0,5	0,47 ± 0,03	1,0
indinavir	1,3	1 ± 0,6	0,8
lamivudine	0,4	2,5 ± 0,9	7,0
nelfinavir	0,4	0,25 ± 0,004	0,7
névirapine	0,6	0,8 ± 0,4	1,5
ritonavir	1,3	1,1 ± 0,04	0,8
saquinavir	0,2	0,4 ± 0,1	1,7
zidovudine	4,4	11,1 ± 6,6	2,5
bromazépam	1,4	3,6 ± 2,5	2,5
nordiazépam	0,7	0,8 ± 0,5	1,2
alprazolam	0,7	0,64 ± 0,02	0,9
diazépam	0,7	1,3 ± 1,2	1,8
oxazépam	1,9	2,8 ± 0,2	1,5
lorazépam	1,8	3,2 ± 3,3	1,8
clonazépam	1,0	1,5 ± 0,5	1,5
méprobamate	4,6	1,5 ± 0,8	0,3
kétoprofène	4,7	7,2 ± 0,8	1,5
naproxène	1,9	0,6 ± 0,1	0,3
diclofénac	1,8	3 ± 2,3	1,7
ibuprofène	14,0	14,8 ± 6	1,1
hydroxy-ibuprofène	10,7	6 ± 0,9	0,6
paracétamol	17,8	16,2 ± 6,5	0,9
gemfibrozil	0,8	0,5 ± 0,5	0,6
bézafibrate	1,2	2 ± 0,5	1,6
ac. 4-chlorobenzoïque	17,7	> 10	-
acide fénofibrique	0,5	0,45 ± 0,08	0,9
acide clofibrique	0,7	0,68 ± 0,09	1,0
pravastatine	5,0	2,5 ± 4,4	0,5
atorvastatine	1,1	6 ± 5,5	5,7
aténolol	1,2	4,7 ± 0,7	3,9
bisoprolol	0,6	0,6 ± 0,2	1,1
métoprolol	1,1	1,6 ± 1	1,4
propranolol	1,8	0,9 ± 0,4	0,5
sotalol	4,0	4,8 ± 0,6	1,2
timolol	0,5	0,37 ± 0,03	0,8
acébutolol	0,3	0,4 ± 0,1	1,2
imipramine	0,7	0,3 ± 0,2	0,4
doxépine	1,6	1,5 ± 1,3	0,9
amitriptyline	0,5	0,5 ± 0,2	1,1
fluoxétine	0,5	0,5 ± 0,1	0,9

primidone	9,3	6,6 ± 2,5	0,7
carbamazépine	2,6	1,5 ± 0,3	0,6
cétirizine	0,3	1,2 ± 0,2	4,3
ranitidine	1,5	0,5 ± 0,1	0,3
clenbuterol	0,4	0,8 ± 0,3	2,1
caféine	16,8	21 ± 14,9	1,3
théophylline	6,4	10,9 ± 1,9	1,7
sildénafil	2,2	0,9 ± 0,2	0,4
losartan	0,4	0,24 ± 0,03	0,7
salbutamol	0,4	0,6 ± 0,2	1,6
clopidogrel	1,8	0,8 ± 0,2	0,4
terbutaline	0,6	2 ± 0,7	3,4
disopyramide	0,1	0,3 ± 0,04	2,5

Quelques valeurs de rapport LQ SPE / LQ instrumentale extrapolée sont inférieures à 1, ce qui traduit la variabilité des performances de l'instrument donc de sa sensibilité, discutée en section 1.1.2, Figure 41. Par rapport à la limite de quantification machine, 9 molécules présentent une augmentation supérieure à 2 (cases grisées). Ces molécules sont donc partiellement perdues lors du protocole de préparation des échantillons. Les 44 autres analytes présentent des limites de quantification en accord avec les LQ extrapolées. La Figure 45 précise la répartition du nombre de molécules par classes de limite de quantification.

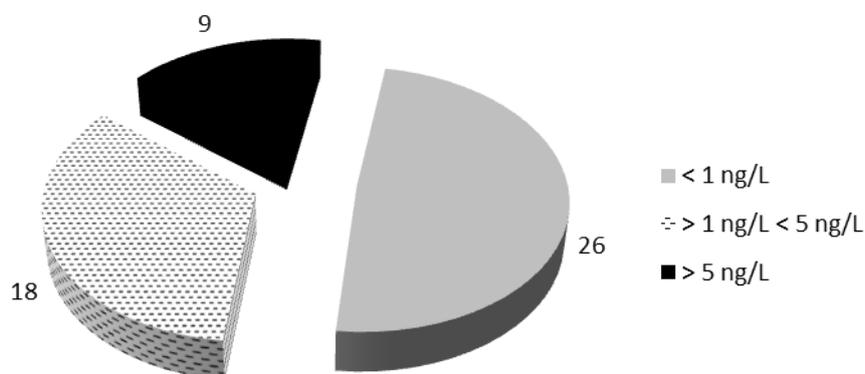


Figure 45. Répartition du nombre de molécules par classes de limites de quantification.

Près de la moitié des molécules présentent une LQ inférieure à 1 ng.L⁻¹, seules 9 molécules présentent une LQ supérieure à 5 ng.L⁻¹ (zidovudine, kétoprofène, ibuprofène, hydroxy-ibuprofène, paracétamol, atorvastatine, primidone, caféine, théophylline). Ces performances sont en accord avec les niveaux de concentration susceptibles d'être rencontrés dans l'estuaire de la Gironde.

1.2.3 Volume de fuite

On définit le volume de fuite comme le volume au-delà duquel la matrice de l'échantillon élue les analytes adsorbés (en anglais, « breakthrough volume » ou volume de percée). En effet, l'eau de l'échantillon agit également comme un solvant et est susceptible d'éluer les composés faiblement retenus dans la phase adsorbante de la cartouche SPE. Pour un volume percolé supérieur au volume de fuite, le rendement d'extraction théorique (sans correction par étalons internes) décroît et, en l'absence d'étalon interne adapté, un tel volume de prise d'essai ne permet pas une quantification juste. Une étude du volume de fuite a donc été conduite sur les protocoles médicaments et filtres UV.

Médicaments

Une masse constante de composés natifs est introduite dans sept volumes d'eau Vittel croissants, de 10 mL à 1 L. On y ajoute une masse connue d'imipramine d4, étalon qui permet *in fine* de corriger la variabilité opératoire. Un témoin non percolé sur la cartouche (ajout des natifs dans le mélange de solvants d'élution) sert de référence. Témoin et échantillons sont extraits en triplicat. Après correction par l'imipramine d4, l'aire associée à chaque analyte est représentée en fonction du volume percolé, en pourcentage du témoin. Quatre types de comportements ont été identifiés : le Tableau 32 regroupe les molécules d'intérêt en fonction de ces comportements notés a, b, c ou d, sachant que b, c et d peuvent éventuellement se combiner avec a. L'ensemble des comportements par molécule est disponible en Annexe 10.

Tableau 32. Molécules selon leur comportement-type. La référence 100 % est donnée pour un volume percolé de 0 mL. Dans le cas des molécules de type a, le pourcentage adsorbé sur la cartouche pour un volume de 10 mL est donné entre parenthèses. Dans les catégories b, c et d, les molécules également affectées du comportement a sont repérées par un a entre parenthèses.

	Comportement-type	Analytes
a.		lamivudine (14 %), paracétamol (73 %), terbutaline (44 %), sotalol (57 %), aténolol (63 %), ranitidine (28 %), théophylline (73 %), abacavir (61 %), caféine (75 %), timolol (55 %), clenbuterol (79 %), nelfinavir (50 %), pravastatine (23 %), acide fénofibrique (74 %), atorvastatine (3 %)
b.		paracétamol (a), sotalol (a), caféine (a), théophylline (a), clenbuterol (a), métoprolol, névirapine, bromazépam, propranolol, indinavir, oxazépam, nordiazépam, lorazépam, clonazépam, losartan, diazépam, ritonavir, acide clofibrique
c.		lamivudine (a), ranitidine (a), abacavir (a), timolol (a), acébutolol, bisoprolol, disopyramide, carbamazépine, imipramine, cétirizine, amitriptyline, fluoxétine, alprazolam, sildénafil, clopidogrel, nelfinavir (a), bézafibrate, pravastatine (a), acide fénofibrique (a), kétoprofène, diclofénac, doxépine, atorvastatine (a)
d.		terbutaline (a), salbutamol, aténolol (a), primidone, méprobamate, saquinavir, acide 4-chlorobenzoïque, zidovudine, hydroxy-ibuprofène, naproxène, gemfibrozil, ibuprofène

Des rendements constants quel que soit le volume percolé sont obtenus pour 23 molécules (comportement de type c), leur volume de fuite est donc supérieur à 1 L. Cependant, 8 sur ces 23 molécules (lamivudine, ranitidine, abacavir, timolol, nelfinavir, pravastatine, acide fénofibrique, atorvastatine) présentent également le comportement de type a (Tableau 32), à savoir une perte systématique pouvant atteindre 97 % (atorvastatine) dès les plus faibles volumes percolés. La perte est considérée comme acceptable jusqu'à des valeurs de 70 %, l'utilisation d'étalons internes permettant de compenser la perte. Lamivudine, ranitidine, pravastatine et atorvastatine, aux pertes supérieures à 30 %, sont peu piégés sur la phase adsorbante de la cartouche, le protocole d'extraction n'est pas adapté pour ces analytes. Ce phénomène est lié à leur hydrophilie : l'essentiel

des molécules de la catégorie a présentent un log D négatif à pH 2. Par ailleurs, dans le cas de l'atorvastatine, Gracia-Lor *et al.* (2010) ont déjà fait état de faibles rendements d'extraction, attribuant cela à son instabilité, due à une possible interconversion de la molécule sous ses formes lactone et acide.

Le comportement de type b est une perte progressive de rendement en fonction du volume percolé, signifiant un volume de fuite inférieur à 10 mL. Les 18 molécules concernées perdent en moyenne 40 % de la masse introduite initialement pour un volume d'1 L, ce qui reste acceptable. Le paracétamol, présenté Figure 46, est la molécule la plus affectée, allant jusqu'à une non détection pour un volume percolé d'1 L.

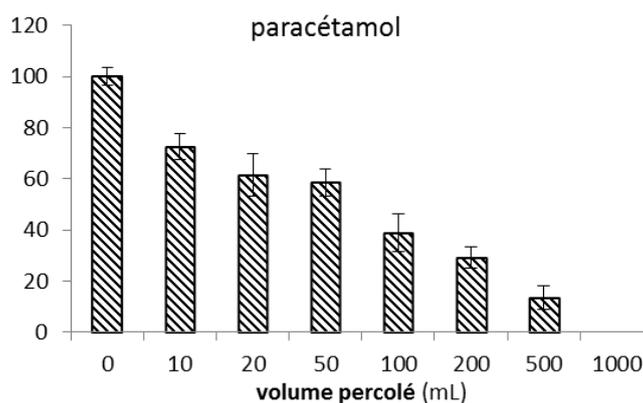


Figure 46. Test de volume de fuite sur le paracétamol. La référence 100 % est donnée pour 0 mL de volume percolé. n=3.

Enfin, le comportement de type d illustre le phénomène de volume de fuite avec de bons rendements jusqu'à un volume plafond suivi d'une décroissance au-delà de ce volume. L'intégralité des molécules de cette catégorie ont un volume de fuite atteint entre 200 et 500 mL, à titre d'exemple, le cas de la primidone est donné Figure 47.

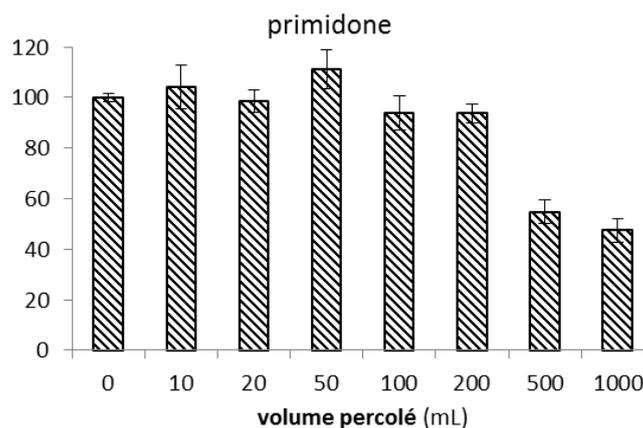


Figure 47. Test de volume de fuite sur la primidone. La référence 100 % est donnée pour 0 mL de volume percolé. n=3.

Les analytes présentent donc des comportements très contrastés. Dans le cadre d'un protocole multi-résidus, devant faire l'objet de compromis, une majorité de molécules correspondant aux comportements de type a et b a été dotée de son homologue marqué pour compenser leur perte

tandis que le volume de prise d'essai optimal est limité à 200 mL pour des eaux environnementales, volume pour lequel les molécules correspondant au comportement de type d ne fuient pas.

Filtres UV

Le comportement des filtres UV lors de leur percolation sur la cartouche a été étudié selon le même protocole que celui appliqué aux médicaments, sans témoin non percolé. Les aires ont donc été normalisées par rapport à l'aire du premier volume percolé, 20 mL. Les résultats sont donnés Figure 48. Aux écarts-types près, les 6 filtres UV ne présentent pas de volume de fuite sur la gamme testée ; il est donc envisageable, afin de baisser les limites de détection, de travailler avec des prises d'essai allant jusqu'à au moins 1 L. Toutefois, pour de tels volume et avec des eaux naturelles, les cartouches Oasis HLB sont susceptibles de se colmater. Afin d'éviter ce phénomène, on ne recommande pas l'extraction de volumes d'eau supérieurs à 200 mL.

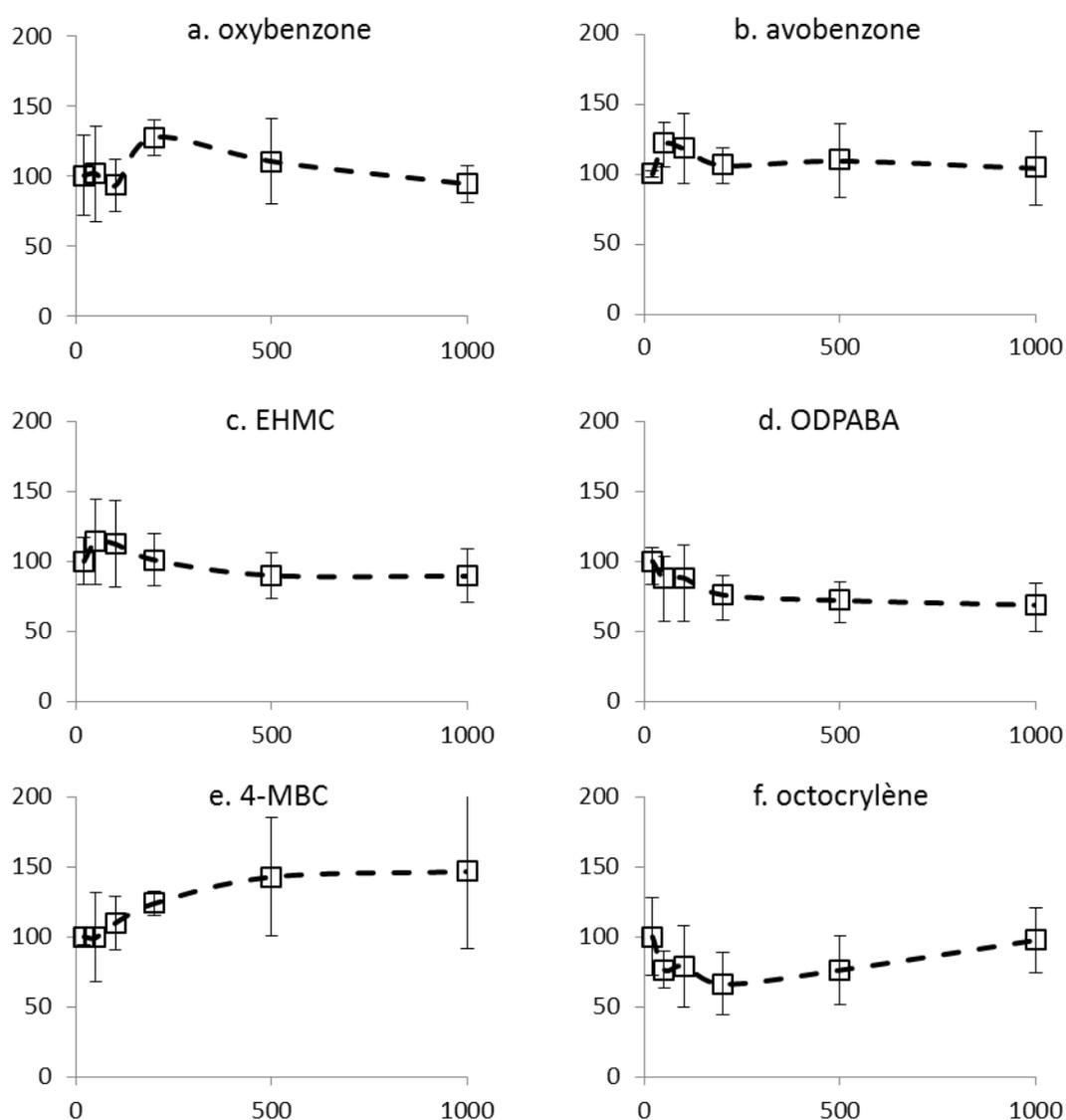


Figure 48. Bilan des tests de volume de fuite sur les filtres UV. Les valeurs sont données en pourcentage de l'aire associée à 20 mL percolés. n=3.

1.2.4 Etude des pertes dues aux étapes préparatives

Cette étude concerne une sélection de 28 analytes, dotés de leur homologue marqué, du protocole médicaments.

Outre les pertes dues à la percolation sur la cartouche qui viennent d'être décrites, le protocole de reconcentration par SPE peut induire d'autres pertes consécutives aux étapes de transfert ou à l'évaporation sous flux d'azote. La connaissance et la maîtrise de ces pertes est essentielle pour obtenir une bonne reproductibilité analytique.

Ces pertes ont été évaluées suivant le protocole classique par l'extraction en triplicats de 100 mL d'eaux dopées en composés natifs en début de manipulation et en étalons internes suivant trois conditions opératoires : ajout des étalons internes avant et après percolation et ajout après évaporation et transfert en flacon d'injection (Figure 49).

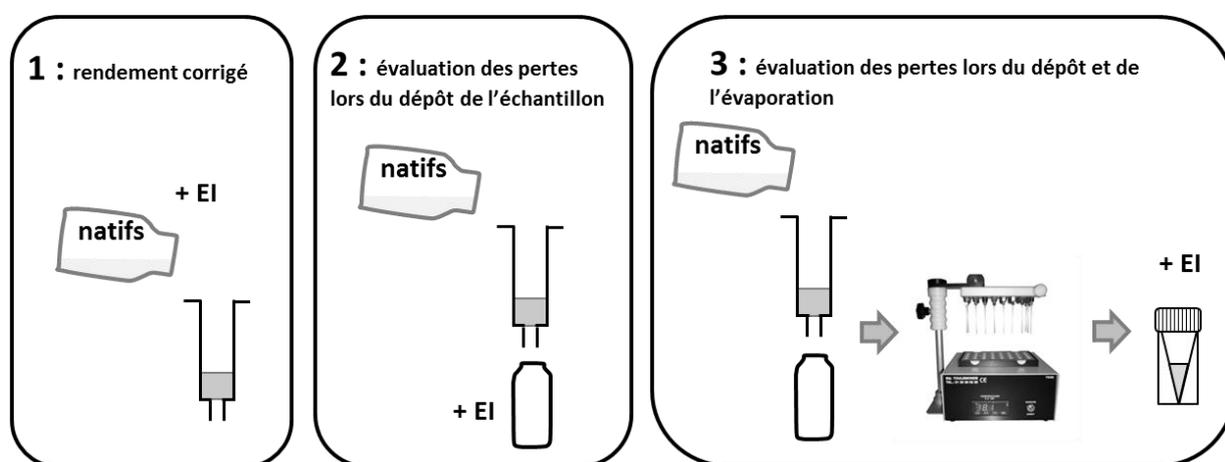


Figure 49. Schéma de l'expérience d'étude des pertes dues aux étapes préparatives selon les trois conditions opératoires.

Les histogrammes pour les 28 molécules sont donnés en Annexe 11. Entre la condition 1 et la condition 2, 4 des 28 molécules testées présentent une diminution de rendements de plus de 25 % (zidovudine, bromazépam, paracétamol, caféine). Ces résultats confirment les observations du test de volume de fuite pour un volume de 100 mL, la perte d'analyte étant ici due à leur non rétention sur la phase adsorbante (cf. exemple du paracétamol, Figure 46).

Entre la condition 2 et la condition 3, 18 molécules perdent plus de 25 % de rendement (abacavir, névirapine, zidovudine, bromazépam, nordiazépam, diazépam, oxazépam, méprobamate, naproxène, diclofénac, paracétamol, aténolol, propranolol, sotalol, primidone, cétirizine, caféine, sildénafil). L'exemple de l'aténolol, pour lequel seuls 10 % de la quantité initiale sont récupérés après évaporation, est donné Figure 50.a.

Cette expérience, aux conditions opératoires représentatives de la majorité des extractions réalisées lors de ces travaux de thèse, permet de lister les molécules dotées de leur homologue marqué pour lesquelles le protocole est le plus robuste lors des étapes préparatives : kétoprofène, ibuprofène,

hydroxy-ibuprofène, gemfibrozil, bézafibrate, acide fénofibrique, acide clofibrique, amitriptyline, fluoxétine et carbamazépine. L'exemple de la carbamazépine est donné Figure 50.b.

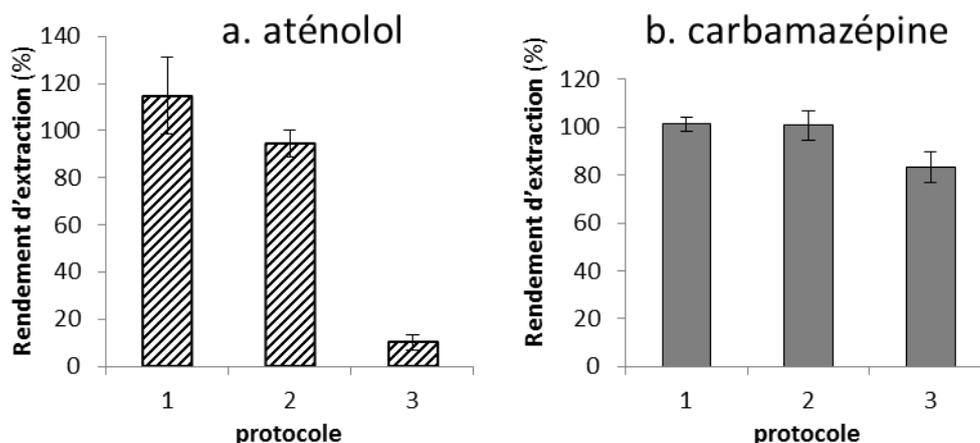


Figure 50. Rendements bruts obtenus pour l'aténolol et la carbamazépine selon les conditions opératoires 1 à 3. La correspondance des numéros de protocoles est donnée Figure 49. n=3.

L'étape d'évaporation et de transfert en flacon d'injection a le plus d'impact sur les rendements bruts de préparation de l'échantillon. Ces résultats, bien que concernant d'autres médicaments que ceux renseignés par Baker et Kasprzyk-Hordern (2011b), soulignent que les analytes sont plus affectés par les étapes d'évaporation et de transfert que ce que les auteurs ont suggéré.

Ces travaux confirment la diversité de comportement des molécules du protocole multi-résidus et appuient la nécessité d'une connaissance approfondie des méthodes préparatives.

1.2.5 Effet de matrice

La matrice de l'échantillon peut perturber l'analyse et la quantification des analytes soit lors de l'étape de séparation chromatographique soit lors de la détection.

Chromatographie : les pics peuvent présenter un élargissement voire un dédoublement, impactant la hauteur donc la sensibilité. En outre, certaines molécules peuvent subir une plus forte rétention dans la colonne et empêcher l'identification de la molécule par le seul critère du temps de rétention.

Détection : dans la source d'ionisation, la matrice peut être responsable d'une extinction plus ou moins intense du signal affectant par conséquent la sensibilité. Gómez *et al.* (2006) ont évoqué trois raisons à cette extinction de signal : 1) l'augmentation du bruit de fond par l'ionisation d'un grand nombre d'interférents ; 2) la non détection des analytes en raison de leur association à de la matière organique, diminuant la part d'analyte sous forme libre ; 3) l'ionisation préférentielle de molécules de la matrice, appelée compétition à l'ionisation.

L'étude d'effet de matrice porte ici sur l'ensemble de ces critères (temps de rétention, extinction de signal, élargissement des pics et augmentation du bruit de fond). Quatre matrices de charge organique croissante ont été extraites en triplicats : de l'eau Vittel, de l'eau de Garonne, de l'effluent de sortie de station d'épuration et de l'effluent d'entrée de station d'épuration. Dans l'idéal, il aurait fallu disposer de matrices exemptes des analytes afin de connaître précisément la quantité de composés natifs ajoutée. En pratique, les eaux n'en étant pas exemptes, le choix s'est porté sur l'ajout d'étalons internes marqués isotopiquement aux extraits juste avant l'injection (solution de 33 étalons internes du protocole médicaments). Une partie de ces extraits a été diluée dix fois dans le solvant d'injection. Les réponses de chaque analyte sont comparées à celles d'une solution étalon préparée dans le solvant d'injection.

a) *Extinction de signal*

Les moyennes des coefficients d'extinction de signal, définis comme le rapport du coefficient de réponse dans la matrice sur le coefficient de réponse dans le témoin-solvant, sont présentés dans le Tableau 33. L'indinavir d6, présentant des variabilités élevées au sein d'un triplicat, a été exclu des interprétations.

Tableau 33. Coefficients moyens d'extinction de signal (sur les 33 étalons internes) observés pour différentes matrices par rapport au témoin solvant.

	Vittel	Garonne	sortie STEP	entrée STEP
Extrait	0,89	0,86	0,76	0,45
Extrait dilué 1/10	0,92	0,88	0,92	0,86

L'extinction de signal est faible pour l'eau Vittel, l'eau de Garonne et l'effluent de sortie de STEP. En revanche, avec plus de 50 % d'extinction moyenne, l'analyse de l'effluent d'entrée de STEP est altérée par la matrice. Dans le détail, l'atorvastatine d5, l'ibuprofène d3 et le diclofénac d4 sont les plus lourdement affectés, avec un facteur d'extinction de 54, 24 et 23, respectivement. Il est à noter que les molécules les plus affectées par une extinction de signal sont celles ionisées en mode négatif.

Après dilution 10 fois, l'extinction de signal devient négligeable et l'atorvastatine d5, l'ibuprofène d3 et le diclofénac d4 prennent des coefficients d'extinction de 11, 2 et 2. Gómez *et al.* (2006) ont également reporté une élimination de l'extinction de signal après dilution au dixième, tout en observant une perte de sensibilité associée à la dilution.

b) *Temps de rétention*

L'étude des variations du temps de rétention mène à un constat identique : seule la matrice d'entrée de STEP affecte l'élution dans la colonne chromatographique. Les temps de rétention ne varient que pour certains composés et peuvent augmenter de 0,7 min (cas du propranolol). Les résultats en pourcentage d'augmentation par rapport au témoin solvant sont donnés Figure 51.

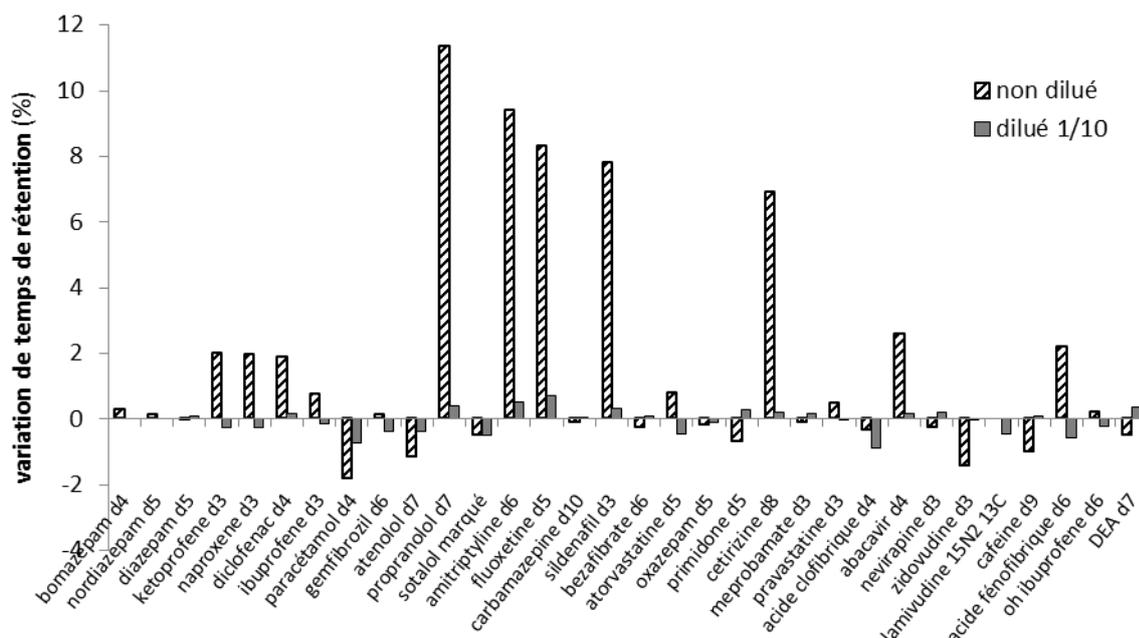


Figure 51. Variation du temps de rétention entre les extraits d'entrée de STEP et le témoin solvant.

Le propranolol d7, l'amitriptyline d6, la fluoxétine d5 et la cétirizine d8 sont les plus affectés avec plus de 7 % d'augmentation de temps de rétention. L'augmentation du temps de rétention de la fluoxétine dans des matrices d'entrée de STEP a déjà été observée lors de précédents travaux (Barclay *et al.*, 2012 ; Zhao et Metcalfe, 2008). Il est intéressant de noter que le propranolol, l'amitriptyline et la fluoxétine sont des molécules à $\log K_{ow}$ élevé. L'hypothèse d'une association à de la matière organique dissoute qui augmenterait le temps de rétention peut être faite, bien que ce phénomène n'ait pas été spécifiquement décrit dans la littérature.

Après dilution, les molécules sont éluées suivant leur temps de rétention usuel, sans décalage. L'identification de la molécule native doit donc être conduite avec précaution, en utilisant la comparaison à la transition de confirmation et à la transition de l'étalon interne.

c) Elargissement des pics

La largeur moyenne du pic est calculée par le rapport de l'aire du pic chromatographique divisée par sa hauteur. Seul l'extrait d'effluent d'entrée de STEP présente des molécules affectées par un élargissement de pic. Les 13 étalons internes pour lesquels le pic s'élargit de plus de 20 % par rapport au témoin-solvant sont donnés Figure 52.

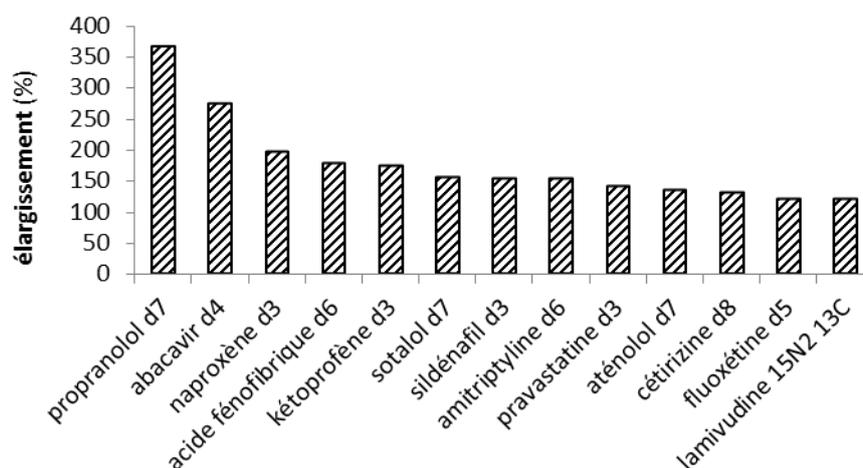


Figure 52. Elargissement des pics entre le témoin solvant et les extraits d'effluent d'entrée de STEP.

Le propranolol d7 est le plus touché par le phénomène, son pic s'élargissant d'un facteur 4. Le chromatogramme correspondant est donné à titre indicatif Figure 53.

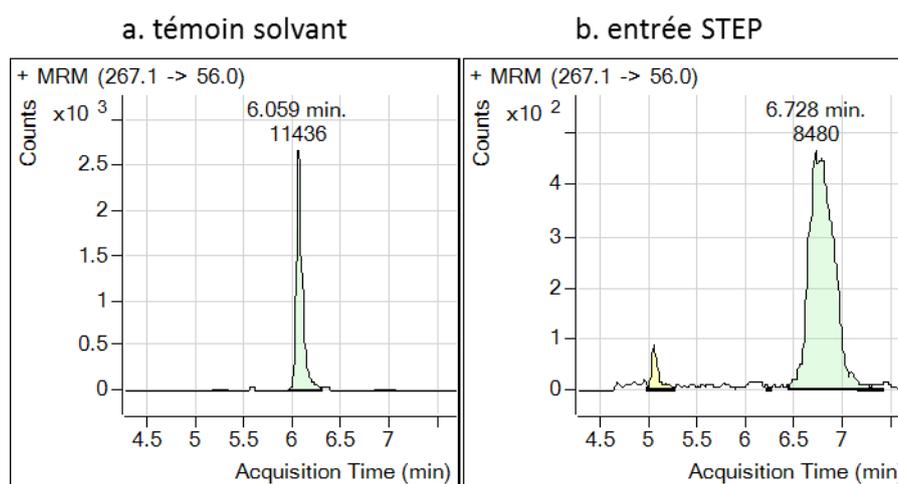


Figure 53. Chromatogrammes du propranolol d7 dans le témoin solvant et dans l'extrait d'entrée de STEP.

d) Bruit de fond

Le bruit de fond dépend des interférents qui répondent à la même transition que l'analyte. Pour cette raison, il n'est pas lié aux propriétés physico-chimiques des analytes mais aux schémas de fragmentation de l'ensemble des molécules composant la matrice. Le bruit de fond est estimé par le rapport de la hauteur du pic sur le rapport signal sur bruit, sa mesure étant effectuée entre 0,4 min et 0,2 min avant le pic.

La hauteur moyenne du pic maximal du bruit de fond (conséquence du mode de détection du bruit « peak-to-peak ») pour les 33 étalons internes considérés est donnée Figure 54 en fonction de la matrice de travail.

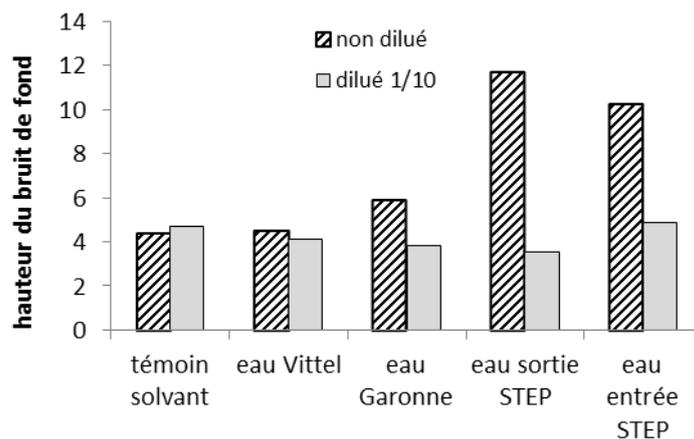


Figure 54. Hauteur moyenne du bruit de fond précédant les 33 étalons internes considérés.

Une augmentation progressive de la hauteur du bruit de fond est observée pour des matrices de plus en plus chargées. Ce résultat est à mettre en parallèle avec le nombre croissant de molécules organiques contenues dans ces échantillons, point qui sera discuté dans le chapitre 4.1, section 1.7. L'extrait d'eau d'entrée de STEP, bien que probablement plus riche en molécules organiques, ne présente pas la hauteur de bruit de fond maximale. Ce constat est à considérer à la lumière des extinctions de signal précédemment évoquées : les interférents contenus dans la matrice peuvent subir une extinction différente de celle des analytes, rendant difficile la comparaison de ce type de matrices à celles n'altérant pas le signal. Après dilution 1/10, la hauteur moyenne du bruit de fond est indépendante de la matrice.

e) Bilan sur l'effet de matrice

Excepté pour le bruit de fond, l'effet de matrice est perceptible sur les matrices très chargées de type extraits d'entrée de STEP. L'étude des extraits dilués dix fois, comparables au témoin-solvant, montre que cet effet semble se manifester à partir d'une valeur seuil.

A partir de ces observations, il est possible d'estimer des limites de quantification adaptées à la matrice considérée en appliquant un coefficient correcteur aux LQ calculées dans l'eau Vittel. En toute rigueur, ce coefficient devrait prendre en compte l'extinction de signal ainsi que l'augmentation du bruit de fond. Toutefois, la correction liée au bruit de fond est complexe et variable et n'a pas été prise en compte dans le cadre de ce travail.

Pour les molécules ne disposant pas de leur homologue marqué, le coefficient d'extinction moyen calculé sur l'ensemble des étalons internes a été appliqué.

Les limites de quantification corrigées pour les matrices de sortie et d'entrée de STEP sont présentées dans le Tableau 34. L'influence de la matrice est maximale pour l'atorvastatine, l'ibuprofène et le diclofénac.

Tableau 34. Limites de quantification corrigées dans la matrice par extrapolation des limites de quantification précédemment déterminées dans l'eau Vittel.

Analyte	LQ (ng.L ⁻¹)		
	Mesurée eau Vittel	Corrigée sortie STEP	Corrigée entrée STEP
abacavir	0,5	0,6	0,8
indinavir	1,0	1,0	1,0
lamivudine	2,5	3,0	5,8
nelfinavir	0,3	0,3	1,1
névirapine	0,8	1,0	1,5
ritonavir	1,1	1,3	5,0
saquinavir	0,4	0,5	1,8
zidovudine	11,1	21,0	26,5
bromazépam	3,6	4,4	7,0
nordiazépam	0,8	1,0	1,8
alprazolam	0,6	0,8	2,9
diazépam	1,3	1,4	2,9
oxazépam	2,8	2,7	3,4
lorazépam	3,2	3,8	14,6
clonazépam	1,5	1,8	6,7
méprobamate	1,5	1,9	2,1
kétoprofène	7,2	8,7	17,6
naproxène	0,6	0,9	1,9
diclofénac	3,0	3,5	72,8
ibuprofène	14,8	16,1	342,2
hydroxy-ibuprofène	6,0	7,6	18,6
paracétamol	16,2	22,1	47,5
gemfibrozil	0,5	0,5	2,4
bézafibrate	2,0	1,9	2,1
ac. 4-chlorobenzoïque	17,7	21,0	80,3
acide fénofibrique	0,5	0,5	1,0
acide clofibrique	0,7	0,7	1,1
pravastatine	2,5	3,4	9,9
atorvastatine	6,0	12,0	254,4
aténolol	4,7	5,1	7,2
bisoprolol	0,6	0,8	2,9
métoprolol	1,6	1,9	7,2
propranolol	0,9	1,2	1,6
sotalol	4,8	5,5	8,2
timolol	0,4	0,4	1,7
acébutolol	0,4	0,4	1,7
imipramine	0,3	0,4	1,4
doxépine	1,5	1,8	6,7
amitriptyline	0,5	0,5	0,7
fluoxétine	0,5	0,5	0,6
primidone	6,6	8,7	12,4
carbamazépine	1,5	1,7	2,4
cétirizine	1,2	1,1	1,5
ranitidine	0,5	0,6	2,2

Analyte	LQ (ng.L ⁻¹)		
	Mesurée eau Vittel	Corrigée sortie STEP	Corrigée entrée STEP
clenbuterol	0,8	1,0	3,8
caféine	21,0	29,2	46,8
théophylline	10,9	12,9	49,3
sildénafil	0,9	0,8	0,8
losartan	0,2	0,3	1,1
salbutamol	0,6	0,7	2,6
clopidogrel	0,8	0,9	3,6
terbutaline	2,0	2,4	9,0
disopyramide	0,3	0,4	1,4

1.3 Autres protocoles d'extraction

1.3.1 Extraction des matrices solides

a) Rendements d'extraction

Les dopages de matrices solides ont été réalisés lors des analyses de matières particulaires par enrichissement en composés d'intérêt de filtres neufs, préalablement calcinés, et lors des analyses de sédiments par surdopage d'un sédiment peu contaminé à une concentration de 50 ng.g⁻¹. Les rendements d'extraction moyens de matrice solide sur la totalité des échantillons dopés au cours du présent travail sont résumés dans le Tableau 35, l'intégralité des valeurs étant présentée Figure 55.

Les rendements moyens sont compris dans l'intervalle [80,120] pour 39 molécules, essentiellement les analytes dotés de leur homologue marqué comme étalon interne. Seuls ranitidine et terbutaline présentent des rendements inférieurs à 50 %. Par ailleurs, les molécules aux rendements d'extraction dans les matrices solides variables le sont également lors de l'extraction d'eaux. Le protocole d'extraction des matrices solides comprenant une purification par SPE avec le même protocole que pour l'extraction d'eaux, cette étape peut être responsable de la variabilité observée.

Tableau 35. Rendements moyens d'extraction des matrices solides. La colonne « nb valeur [80,120] » correspond au nombre de rendements mesurés dans un intervalle de 80 % à 120 % parmi les « n » mesures indiquées dans la colonne n=. Les molécules quantifiées par leur homologue marqué sont identifiées par une astérisque.

Composé	El associé	Rendement moyen	n=	nb valeur [80,120]
abacavir*	abacavir d4	106 ± 5	16	15
indinavir*	indinavir d6	79 ± 22	16	10
lamivudine*	lamivudine ¹⁵ N2- ¹³ C	126 ± 16	13	4
nelfinavir	névirapine d3	92 ± 40	16	8
névirapine*	névirapine d3	105 ± 5	16	15
ritonavir	névirapine d3	132 ± 55	16	6
saquinavir	névirapine d3	74 ± 15	16	7
zidovudine*	zidovudine d3	111 ± 44	13	9
bromazépam*	bromazépam d4	103 ± 4	16	16
nordiazépam*	nordiazépam d5	107 ± 7	16	15

Composé	El associé	Rendement moyen	n=	nb valeur [80,120]
alprazolam	diazépam d5	95 ± 24	16	8
diazépam*	diazépam d5	103 ± 6	16	16
oxazépam*	oxazépam d5	109 ± 8	16	16
lorazépam	diazépam d5	67 ± 31	13	6
clonazépam	diazépam d5	77 ± 26	13	9
méprobamate*	méprobamate d3	107 ± 7	13	12
kétoprofène*	kétoprofène d3	113 ± 11	16	12
naproxène*	naproxène d3	105 ± 9	16	14
diclofénac*	diclofénac d4	109 ± 7	16	15
ibuprofène*	ibuprofène d3	106 ± 8	16	15
hydroxy-ibuprofène*	OH ibuprofène d6	103 ± 12	13	12
paracétamol*	paracétamol d4	114 ± 42	16	15
gemfibrozil*	gemfibrozil d6	109 ± 9	16	14
bézafrate*	bézafrate d6	103 ± 6	16	16
ac. 4-chlorobenzoïque	diclofénac d4	56 ± 31	13	3
acide fénofibrique*	acide fénofibrique d6	116 ± 9	13	10
acide clofibrique*	acide clofibrique d4	104 ± 8	13	12
pravastatine*	pravastatine d3	93 ± 21	13	9
atorvastatine*	atorvastatine d5	115 ± 23	10	9
aténolol*	aténolol d7	104 ± 8	16	16
bisoprolol	propranolol d7	99 ± 12	16	15
métoprolol	propranolol d7	108 ± 9	16	15
propranolol*	propranolol d7	110 ± 9	16	13
sotalol*	sotalol d7	108 ± 8	16	15
timolol	propranolol d7	88 ± 14	16	11
acébutolol	propranolol d7	101 ± 9	16	15
imipramine	amitriptyline d6	96 ± 9	16	16
doxépine	amitriptyline d6	105 ± 10	16	15
amitriptyline*	amitriptyline d6	106 ± 9	16	15
fluoxétine*	fluoxétine d5	103 ± 6	16	16
primidone*	primidone d5	106 ± 7	13	12
carbamazépine*	carbamazépine d10	104 ± 6	16	16
cétirizine*	cétirizine d8	107 ± 7	13	13
ranitidine	diazépam d5	20 ± 14	16	0
clenbuterol	diazépam d5	95 ± 16	16	12
caféine*	caféine d9	132 ± 28	15	7
théophylline	caféine d9	75 ± 24	16	8
sildénafil*	sildénafil d3	103 ± 8	16	16
losartan	diazépam d5	51 ± 39	16	5
salbutamol	diazépam d5	53 ± 24	16	3
clopidogrel	diazépam d5	97 ± 19	16	13
terbutaline	diazépam d5	49 ± 24	13	2
disopyramide	diazépam d5	124 ± 14	16	7

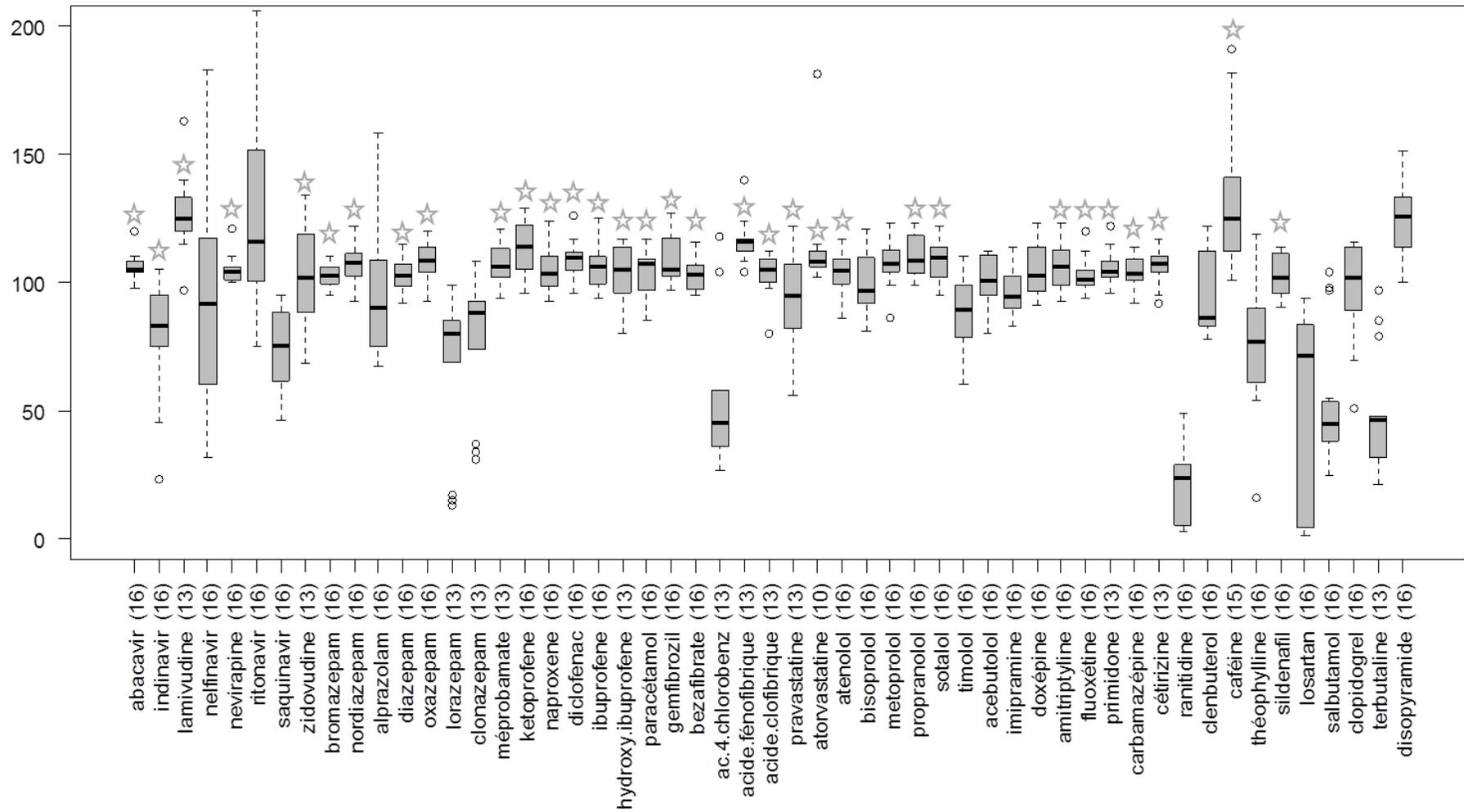


Figure 55. Rendements d'extraction de matrice solide obtenus dans le cadre des travaux de thèse. Le nombre de mesures est indiqué entre parenthèses. Les molécules quantifiées par rapport à leur homologue marqué sont identifiées par une étoile.

b) Limites de détection et de quantification

Les limites de détection et de quantification ont été extrapolées à partir des rapports signal sur bruit mesurés sur les échantillons de matrice solide, en considérant la reconcentration de 500 mg de matrice solide dans un extrait de 300 µL (Tableau 36). Les limites de détection sont basses, inférieures à 1 ng.g⁻¹ pour 38 molécules. L'écart-type relatif moyen toutes molécules confondues est de 77 %, acide fénofibrique et acide clofibrique étant les molécules aux LD et LQ les plus variables (> 200 %). Dans le cas de l'analyse de matières en suspension, il est possible de recueillir plus ou moins de 500 mg de matière sur le filtre. Les limites de détection et quantification évoluent donc en conséquence, plus basses pour une grande quantité de matière et plus hautes pour une faible quantité.

Tableau 36. Limites de détection (LD) et de quantification (LQ) extrapolées à partir des rapports signal sur bruit mesurés sur les échantillons de matrice solide dopés, en considérant la reconcentration de 500 mg de matrice dans un extrait de 300 µL. Le nombre de réplicats est compris entre 13 et 16, le détail étant donné Figure 55.

Composé	LD ng.g ⁻¹	LQ ng.g ⁻¹	Composé	LD ng.g ⁻¹	LQ ng.g ⁻¹
abacavir	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,4	pravastatine	4 ± 6,6	13,5 ± 22,1
indinavir	0,04 ± 0,02	0,1 ± 0,1	atorvastatine	0,3 ± 0,1	0,8 ± 0,3
lamivudine	0,6 ± 0,3	1,9 ± 1	atéanolol	2,1 ± 0,6	6,9 ± 2,1
nelfinavir	0,04 ± 0,01	0,12 ± 0,03	bisoprolol	0,06 ± 0,04	0,2 ± 0,1
névirapine	0,08 ± 0,07	0,3 ± 0,2	métoprolol	0,3 ± 0,2	1 ± 0,5
ritonavir	0,11 ± 0,02	0,4 ± 0,1	propranolol	0,1 ± 0,1	0,5 ± 0,4
saquinavir	0,1 ± 0	0,2 ± 0,04	sotalol	2,3 ± 0,7	7,8 ± 2,4
zidovudine	1,1 ± 0,9	3,6 ± 2,9	timolol	0,1 ± 0,05	0,3 ± 0,2
bromazépam	1 ± 0,4	3,4 ± 1,3	acébutolol	0,09 ± 0,05	0,3 ± 0,2
nordiazépam	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,3	imipramine	0,08 ± 0,04	0,3 ± 0,1
alprazolam	0,5 ± 0,2	1,8 ± 0,6	doxépine	0,3 ± 0,2	0,9 ± 0,6
diazépam	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,4	amitriptyline	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,4
oxazépam	0,2 ± 0,2	0,7 ± 0,6	fluoxétine	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,3
lorazépam	0,2 ± 0,2	0,7 ± 0,5	primidone	2,8 ± 1,4	9,4 ± 4,7
clonazépam	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,2	carbamazépine	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,2
méprobamate	0,4 ± 0,4	1,3 ± 1,2	cétirizine	0,06 ± 0,03	0,2 ± 0,1
kétoprofène	2,9 ± 2,8	9,8 ± 9,2	ranitidine	0,2 ± 0,2	0,6 ± 0,6
naproxène	0,2 ± 0,1	0,8 ± 0,2	clenbuterol	0,8 ± 0,7	2,5 ± 2,2
diclofénac	0,14 ± 0,03	0,5 ± 0,1	caféine	28,8 ± 25,3	96 ± 84,4
ibuprofène	1,5 ± 0,9	5 ± 3,1	théophylline	28,2 ± 34,6	94,1 ± 115,3
hydroxy-ibuprofène	1,3 ± 1	4,4 ± 3,2	sildénafil	0,2 ± 0,1	0,8 ± 0,4
paracétamol	12,4 ± 6,5	41,3 ± 21,6	losartan	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,2
gemfibrozil	0,05 ± 0,03	0,2 ± 0,1	salbutamol	0,5 ± 0,4	1,8 ± 1,4
bézafigrate	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,4	clopidogrel	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,2
ac. 4-chlorobenzoïque	1,6 ± 1,3	5,4 ± 4,2	terbutaline	6,2 ± 7,4	20,8 ± 24,6
acide fénofibrique	0,8 ± 2,2	2,5 ± 7,3	disopyramide	0,03 ± 0,01	0,09 ± 0,03
acide clofibrique	2,6 ± 6,2	8,8 ± 20,8			

1.3.2 Extraction de la phase réceptrice des POCIS

Les dopages de phase réceptrice de POCIS ont été réalisés par enrichissement en composés d'intérêt directement sur la phase réceptrice, celle-ci étant mise en cartouche et contenue entre deux frittés, à la concentration de $100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Les rendements d'extraction moyens de phase réceptrice de POCIS, sur la totalité des POCIS dopés au cours du présent travail, sont résumés dans le Tableau 37, l'intégralité des valeurs étant présentées graphiquement Figure 56.

Les rendements moyens sont compris dans l'intervalle [80,120] pour 48 molécules, soit un plus grand nombre d'analytes que dans les cas d'extraction d'eaux et de matrice solides. Les molécules présentant des rendements faibles, sensiblement inférieurs à 80 %, sont : indinavir, acide 4-chlorobenzoïque, ranitidine et terbutaline. En comparaison à l'extraction des eaux, il est normal d'obtenir des rendements meilleurs puisque la sélectivité de la phase s'opère dès l'échantillonnage et n'est donc pas prise en compte dans les dopages effectués. Ceux-ci intègrent essentiellement les opérations de reconcentration sous flux et de transfert.

L'amélioration des limites de quantification est discutée au chapitre 3.2, section 2.1.3.

Tableau 37. Rendements moyens d'extraction de la phase réceptrice des POCIS. La colonne « nb valeur [80,120] » correspond au nombre de rendements mesurés dans un intervalle de 80 % à 120 % parmi les « n » mesures indiquées dans la colonne n=. Les molécules quantifiées par leur homologue marqué sont identifiées par une astérisque.

Composé	El associé	Rendement moyen	n=	nb valeur [80,120]
abacavir*	abacavir d4	96 ± 11	17	15
indinavir*	indinavir d6	54 ± 11	17	1
lamivudine*	lamivudine $^{15}\text{N}_2\text{-}^{13}\text{C}$	90 ± 15	17	12
nelfinavir	névirapine d3	76 ± 27	17	7
névirapine*	névirapine d3	97 ± 11	17	14
ritonavir	névirapine d3	131 ± 41	17	2
saquinavir	névirapine d3	103 ± 30	17	9
zidovudine*	zidovudine d3	99 ± 18	17	12
bromazépam*	bromazépam d4	93 ± 13	17	12
nordiazépam*	nordiazépam d5	93 ± 14	17	13
alprazolam	diazépam d5	114 ± 22	17	9
diazépam*	diazépam d5	96 ± 12	17	13
oxazépam*	oxazépam d5	96 ± 16	17	13
lorazépam	diazépam d5	102 ± 21	17	10
clonazépam	diazépam d5	93 ± 16	17	13
méprobamate*	méprobamate d3	96 ± 14	17	14
kétoprofène*	kétoprofène d3	98 ± 15	17	13
naproxène*	naproxène d3	96 ± 15	17	11
diclofénac*	diclofénac d4	100 ± 14	17	13
ibuprofène*	ibuprofène d3	94 ± 14	17	12
hydroxy-ibuprofène*	OH ibuprofène d6	97 ± 19	17	12
paracétamol*	paracétamol d4	90 ± 23	17	13
gemfibrozil*	gemfibrozil d6	96 ± 12	17	14
bézafibrate*	bézafibrate d6	97 ± 13	17	14

Composé	El associé	Rendement moyen	n=	nb valeur [80,120]
ac. 4-chlorobenzoïque	diclofénac d4	67 ± 30	16	0
acide fénofibrique*	acide fénofibrique d6	114 ± 23	17	8
acide clofibrique*	acide clofibrique d4	95 ± 14	17	12
pravastatine*	pravastatine d3	93 ± 11	17	14
atorvastatine*	atorvastatine d5	93 ± 24	17	10
aténolol*	aténolol d7	94 ± 13	17	12
bisoprolol	propranolol d7	99 ± 18	17	13
métoprolol	propranolol d7	95 ± 17	17	12
propranolol*	propranolol d7	91 ± 15	17	12
sotalol*	sotalol d7	94 ± 12	17	13
timolol	propranolol d7	83 ± 12	17	10
acébutolol	propranolol d7	89 ± 18	17	11
imipramine	amitriptyline d6	89 ± 16	17	12
doxépine	amitriptyline d6	88 ± 18	17	11
amitriptyline*	amitriptyline d6	91 ± 19	17	12
fluoxétine*	fluoxétine d5	106 ± 25	17	9
primidone*	primidone d5	96 ± 14	17	13
carbamazépine*	carbamazépine d10	98 ± 16	17	13
cétirizine*	cétirizine d8	93 ± 11	17	12
ranitidine	diazépam d5	9 ± 13	15	0
clenbuterol	diazépam d5	92 ± 18	17	10
caféine*	caféine d9	89 ± 18	17	10
théophylline	caféine d9	99 ± 12	17	13
sildénafil*	sildénafil d3	80 ± 16	17	11
losartan	diazépam d5	88 ± 15	17	9
salbutamol	diazépam d5	89 ± 30	17	9
clopidogrel	diazépam d5	79 ± 16	17	9
terbutaline	diazépam d5	47 ± 26	16	1
disopyramide	diazépam d5	102 ± 28	17	9

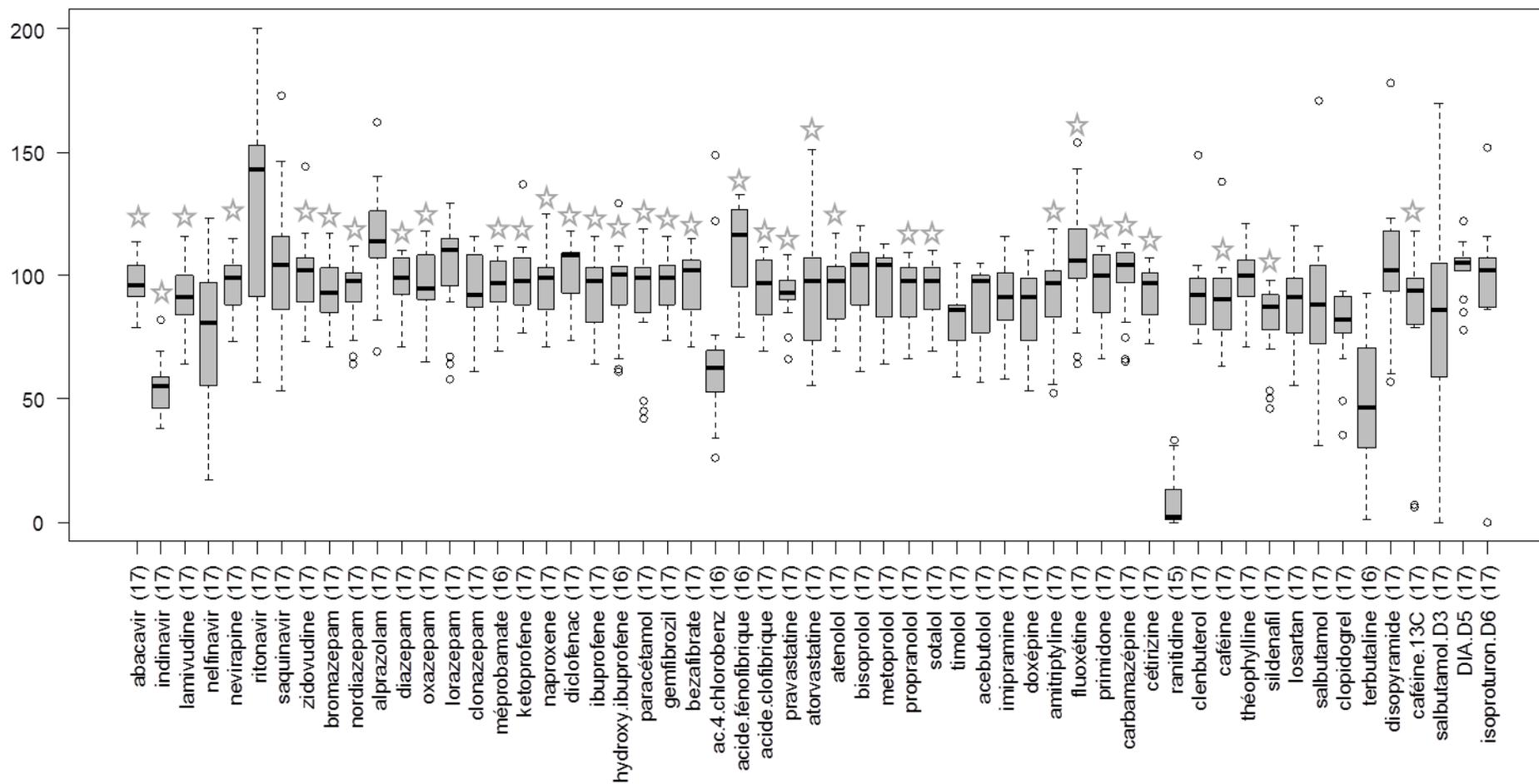


Figure 56. Rendements d'extraction de phase réceptrice de POCIS obtenus dans le cadre des travaux de thèse. Le nombre de mesures est indiqué entre parenthèses. Les molécules quantifiées par rapport à leur homologue marqué sont identifiées par une étoile.

1.4 Nécessité d'usage d'étalons internes adaptés

Médicaments

Il ressort des observations précédentes qu'une quantification rigoureuse nécessite de multiplier les étalons internes afin de couvrir la diversité des comportements rencontrés (combinaison molécules-matrices). Dans le cas idéal, chaque molécule à quantifier devrait disposer de son homologue marqué. Ceci n'étant pas réalisable en pratique sur un screening moléculaire aussi large, le choix des étalons a dû être fait en se fondant sur plusieurs critères : l'influence des analytes aux étapes préparatives (résumée dans le Tableau 38), l'importance stratégique des analytes (notion de traceur) et l'intégration du savoir-faire existant au laboratoire.

Tableau 38. Influence des étapes préparatives sur les analytes et molécules dotées de leur homologue marqué. Les molécules pour lesquelles l'influence de l'étape d'évaporation et de transfert ainsi que l'effet de matrice ont été étudié sont marquées d'une astérisque.

	Influence chromatographique	Influence du volume percolé	Influence de l'étape d'évaporation et de transfert	Influence de l'effet de matrice	Homologue marqué
abacavir *		X	X		EI
indinavir					EI
lamivudine *		X			EI
nelfinavir		X			
névirapine *			X		EI
ritonavir					
saquinavir					
zidovudine *	X		X		EI
bromazépam *			X		EI
nordiazépam *			X		EI
alprazolam					
diazépam *			X		EI
oxazépam *			X		EI
lorazépam					
clonazépam					
méprobamate *			X		EI
kétoprofène *	X				EI
naproxène *			X		EI
diclofénac *			X	X	EI
ibuprofène *	X			X	EI
hydroxy-ibuprofène *	X				EI
paracétamol *	X	X	X		EI
gemfibrozil *					EI
bézafibrate *					EI
acide 4-chlorobenzoïque	X				
acide fénofibrique *		X			EI
acide clofibrrique *					EI
pravastatine *		X			EI
atorvastatine *		X		X	EI
aténolol *		X	X		EI

	Influence chromatographique	Influence du volume percolé	Influence de l'étape d'évaporation et de transfert	Influence de l'effet de matrice	Homologue marqué
bisoprolol					
métoprolol					
propranolol *			X	X	EI
sotalol *		X	X		EI
timolol		X			
acébutolol					
imipramine					
doxépine					
amitriptyline *				X	EI
fluoxétine				X	EI
primidone *			X		EI
carbamazépine *					EI
cétirizine *			X	X	EI
ranitidine		X			
clenbuterol		X			
caféine *	X	X	X		EI
théophylline	X	X			
sildénafil *			X		EI
losartan					
salbutamol	X				
clopidogrel					
terbutaline	X	X			
disopyramide					

Afin d'illustrer l'importance du choix de l'étalon interne, l'ibuprofène et le propranolol ont été quantifiés dans un échantillon d'entrée de STEP par différents étalons internes disponibles dans le protocole (Figure 57). En fonction de l'étalon interne choisi, les concentrations peuvent être sous-estimées jusqu'à un facteur 5 ou surestimées jusqu'à un facteur 8.

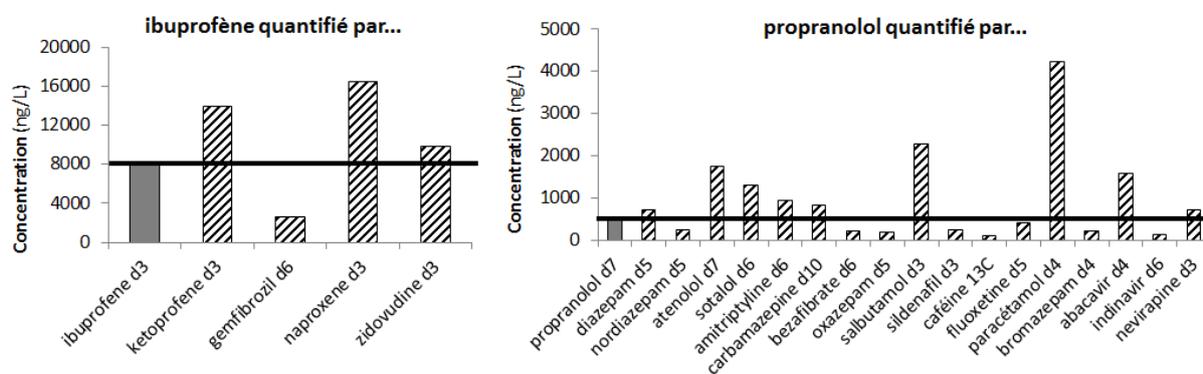


Figure 57. Concentrations en ibuprofène et propranolol calculées par différents étalons internes. La valeur de référence, calculée avec l'homologue marqué pour étalon interne, est représentée par le trait noir.

Les comportements des analytes et des étalons internes lors de leur analyse étant fonction de la matrice, la surestimation ou la sous-estimation n'est pas constante et peut conduire à des interprétations erronées. La Figure 58 présente la quantification moyenne de triplicats d'échantillons d'entrée et de sortie de STEP selon l'étalon interne choisi.

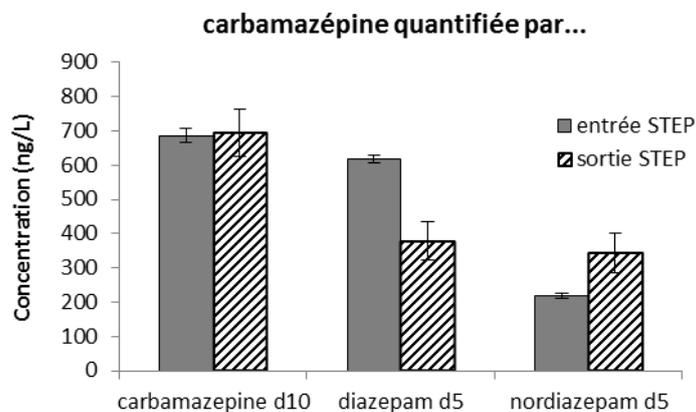


Figure 58. Concentrations moyennes en carbamazépine en entrée et en sortie de STEP suivant l'étalon interne choisi. n=3

Quantifiée par le diazépam d5, la comparaison des concentrations en entrée et en sortie de STEP permet de conclure à une disparition de près de 40 % de la carbamazépine entre l'entrée et la sortie de la STEP. *A contrario*, lorsque la quantification est assurée par le nordiazépam d5, la conclusion est autre puisqu'une génération significative de carbamazépine est observée au cours des procédés d'épuration. Lorsque la quantification est la plus fiable, soit assurée par l'homologue marqué, l'interprétation est une persistance de la molécule lors des traitements.

Filtres UV

Les observations précédentes s'appliquent également aux filtres UV. Toutefois, la non-commercialisation des homologues marqués (à l'exception de l'oxybenzone d5) nécessite d'utiliser des étalons internes alternatifs, ici des dérivés de phtalates. La Figure 59 présente l'ensemble des rendements d'extraction obtenus pour les 6 filtres UV en fonction de l'étalon interne utilisé. Une augmentation des rendements médians est observée pour l'ensemble des molécules de l'oxybenzone d5 vers le DHP d4 puis le DEHP d4, en lien avec le coefficient de partage octanol-eau croissant de ces étalons. En effet, cette hausse est attribuée à la perte partielle des molécules hydrophobes au cours du protocole de préparation de l'échantillon, étalons internes inclus. Pour les plus hydrophiles (oxybenzone, 4-MBC) quantifiées par l'étalon le plus hydrophobe (DEHP d4), la différence de comportement analyte-étalon interne est notable avec une surestimation médiane des concentrations d'un facteur 3 à 5. Par ailleurs, la dispersion des rendements est plus élevée pour les étalons hydrophobes, la perte de ceux-ci étant très sujette aux variabilités opératoires (vitesse de percolation, durée de la manipulation *etc.*).

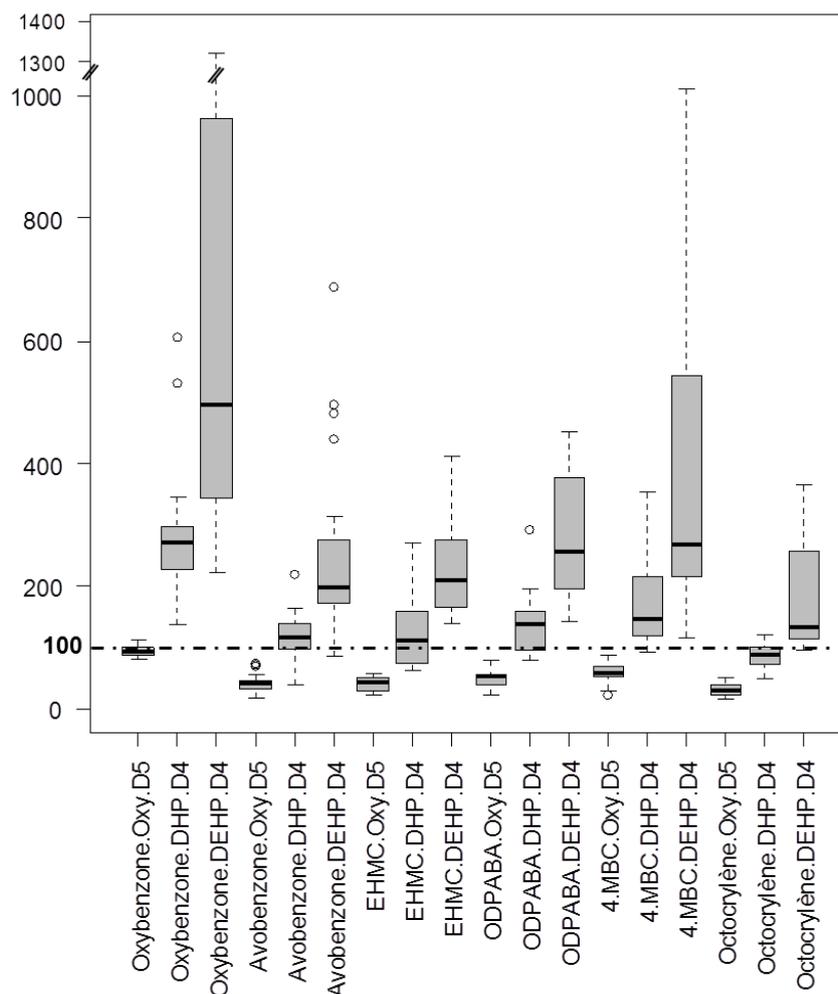


Figure 59. Rendements d'extraction des filtres UV en fonction de l'étalon interne choisi. n=18.

Globalement, le DEHP d4 est inadapté pour la quantification des filtres UV, même des plus hydrophobes, en raison de la forte variabilité et des surestimations qu'il engendre. L'oxybenzone et le 4-MBC présentent des rendements moyens acceptables de 95 et 59 % avec l'oxybenzone d5 (Tableau 39). L'avobenzone et l'octocrylène sont quantifiés par le DHP d4 puisque les rendements moyens prennent les valeurs respectives de 117 et 85 %, avec une variabilité faible. L'EHMC et l'ODPABA sont correctement quantifiés par le DHP d4 mais la variabilité est élevée. Aussi, le choix s'est porté pour ces deux molécules sur l'oxybenzone d5 comme étalon interne par souci de répétabilité des analyses.

Tableau 39. Rendements moyens d'extraction des filtres UV en fonction de l'étalon interne choisi. n=18. Les cases grisées correspondent aux étalons internes préconisés.

EI	Analyte	Oxybenzone	Avobenzone	EHMC	ODPABA	4-MBC	Octocrylène
	Oxybenzone d5		95 ± 8	43 ± 15	42 ± 11	50 ± 14	59 ± 17
DHP d4		280 ± 113	117 ± 38	121 ± 54	139 ± 49	170 ± 65	85 ± 20
DEHP d4		596 ± 340	254 ± 153	229 ± 80	276 ± 107	389 ± 298	184 ± 91

1.5 Validation des étapes préparatives préalables

1.5.1 Conservation de l'échantillon

Médicaments

Afin d'évaluer l'effet de la congélation à -20 °C sur l'intégrité de l'échantillon, des eaux d'entrée et de sortie de STEP ont été prélevées le 08/11/11, réparties brutes et filtrées dans des séries de flacons en PEHD (1 flacon pour chaque durée de conservation) puis congelées. Les échantillons ont été analysés aussitôt puis après 1 semaine, 2 semaines, 3 semaines, 4 semaines, 3 mois, 6 mois et 1 an. L'échantillon T0 a été extrait immédiatement après filtration. Les échantillons suivants ont été mis à décongeler la veille de la manipulation et les eaux brutes ont été filtrées après décongélation. Des aliquotes d'eaux filtrées ont également été conservées en flaconnage en verre borosilicaté et analysées à 3 mois, 6 mois et 1 an.

Les résultats concernant la carbamazépine et l'ibuprofène lors du vieillissement d'échantillons congelés d'eaux d'entrée de STEP, représentatifs du comportement général des molécules étudiées, sont présentés Figure 60.

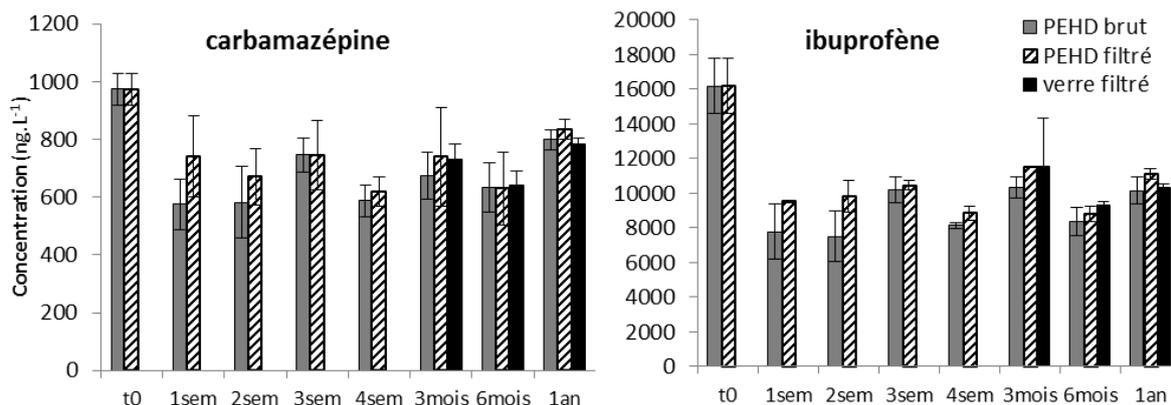


Figure 60. Résultats du test de conservation pour la carbamazépine et l'ibuprofène dans les eaux d'entrée de STEP. n=3. Le T0 brut n'ayant pas de réalité opératoire puisque toutes les analyses sont effectuées sur eaux filtrées, il est donné égal au T0 filtré.

Aucune différence significative n'est observée entre les échantillons stockés bruts et les échantillons stockés filtrés sur ces molécules. En outre, le matériau du flacon n'a pas d'impact sur les concentrations mesurées.

En revanche, une diminution de 20 à 40 % est observée entre le T0 et la moyenne des points suivants. Au-delà de la première semaine, le vieillissement au congélateur n'affecte pas les concentrations mesurées. Les résultats concernant les eaux de sortie de STEP mènent à des conclusions identiques. Le pourcentage de perte entre le T0 et la moyenne des résultats sur toutes les durées de congélation (eaux filtrées, flacon PEHD) est présenté Figure 61 pour toutes les molécules étalonnées avec leur homologue marqué, c'est-à-dire quantifiées de manière la plus juste et la plus répétable (*cf.* section 1.4 de ce chapitre). La liste des molécules est réduite car l'analyse du T0 a été réalisée avec une solution à 15 étalons internes. Les concentrations inférieures à la LQ ont été écartées.

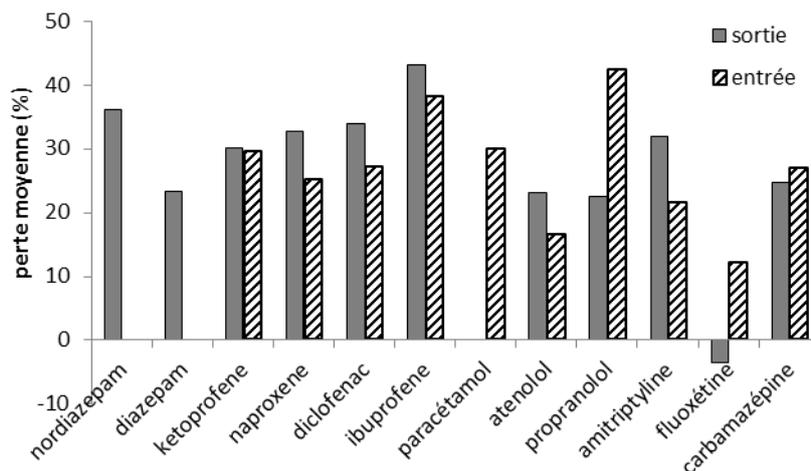


Figure 61. Pourcentage de perte entre le T0 et la moyenne des résultats sur toutes les eaux congelées pour les molécules quantifiées avec leur homologue marqué dans les eaux congelées filtrées dans du PEHD. Nordiazépam et diazépam ne sont pas détectés dans les échantillons d'entrée.

A l'exception de la fluoxétine, toutes les molécules subissent des pertes lors de la congélation de l'échantillon, de 16 % (aténolol) à 43 % (ibuprofène). La matrice n'induit pas de différence.

Afin de déterminer si la perte est due à une adsorption sur les parois du flacon, les flacons en PEHD et en verre borosilicaté de l'échantillon de sortie « T0 + 1 an filtré » ont été extraits une fois vides et rincés à l'eau Vittel par le mélange de solvant d'éluion aux ultra-sons. Par ailleurs, un prélèvement additionnel de cet échantillon stocké dans un flacon en PEHD a été plongé dans un bain à ultra-sons lors de sa décongélation. Les flacons vides contiennent des traces d'analytes, de l'ordre du nanogramme (Figure 62), représentant moins de 1 % de la masse d'analyte quantifiée dans l'échantillon. Les résultats sur l'échantillon décongelé aux ultra-sons, présentés Figure 63, ne montrent pas de différence significative entre les conditions de stockage et de décongélation.

Les pertes observées ne sont donc pas imputables à une séquestration des analytes sur le contenant de l'échantillon. Ces expériences ayant porté sur des eaux riches en matière organique, l'hypothèse de la séquestration des analytes par la phase colloïdale selon le type de matrice pourrait être envisagée dans des études ultérieures.

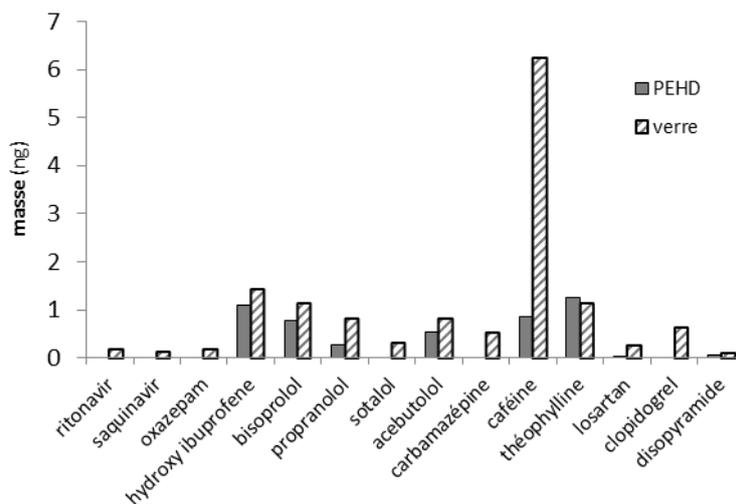


Figure 62. Masse de contaminant séquestré dans le contenant.

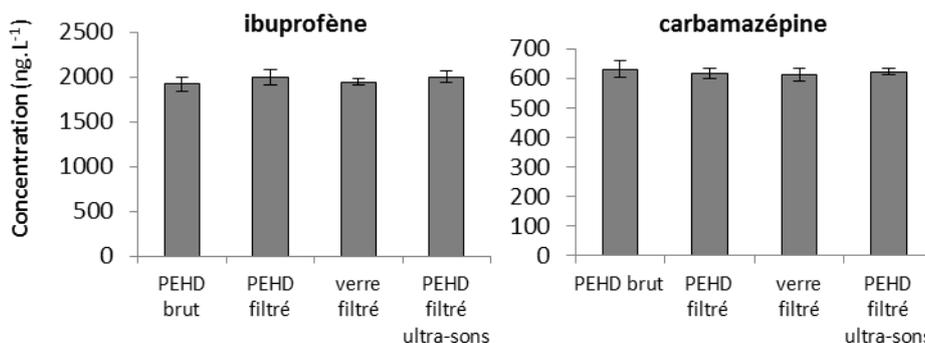


Figure 63. Concentrations relevées sur l'échantillon de sortie de STEP T0 + 1 an selon les conditions de stockage et de décongélation. n=3.

Puisqu'il n'est pas envisageable de s'affranchir d'un point de vue opératoire de la phase de conservation, l'intérêt du dopage en étalons internes préalablement à la congélation dans le but de compenser les pertes en natifs a été évalué.

Des eaux d'entrée et de sortie de STEP, prélevées le 27/06/12, ont été filtrées et réparties en deux lots de flacons, les uns dopés en étalons internes, les autres non, pour analyse immédiate (T0) puis après 1 semaine, 2 semaines et 3 semaines. Les échantillons non dopés en étalons internes le sont juste avant analyse, après décongélation, en accord avec le protocole usuel.

Les résultats concernant la carbamazépine et l'ibuprofène dans les eaux d'entrée de STEP sont présentés Figure 64. Sans dopage en étalons internes avant congélation, les pertes respectives pour ces deux composés sont en moyenne de 23 et 22 %, respectivement. Elles deviennent négligeables et comprises dans la barre d'erreur du T0 dans le cas d'un dopage préalable à la congélation.

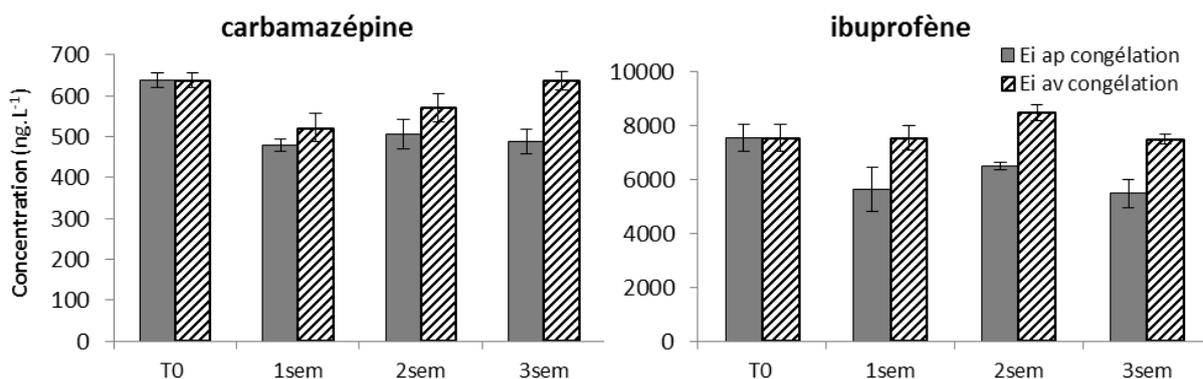


Figure 64. Résultats du test de conservation avec dopage en EI pour la carbamazépine et l'ibuprofène dans les eaux d'entrée de STEP. n=3.

Comme précédemment, le pourcentage de « perte » entre le T0 et la moyenne des résultats de tous les échantillons congelés est présenté pour toutes les molécules quantifiées avec leur homologue marqué (Figure 65). Les concentrations inférieures à la LQ ont été écartées.

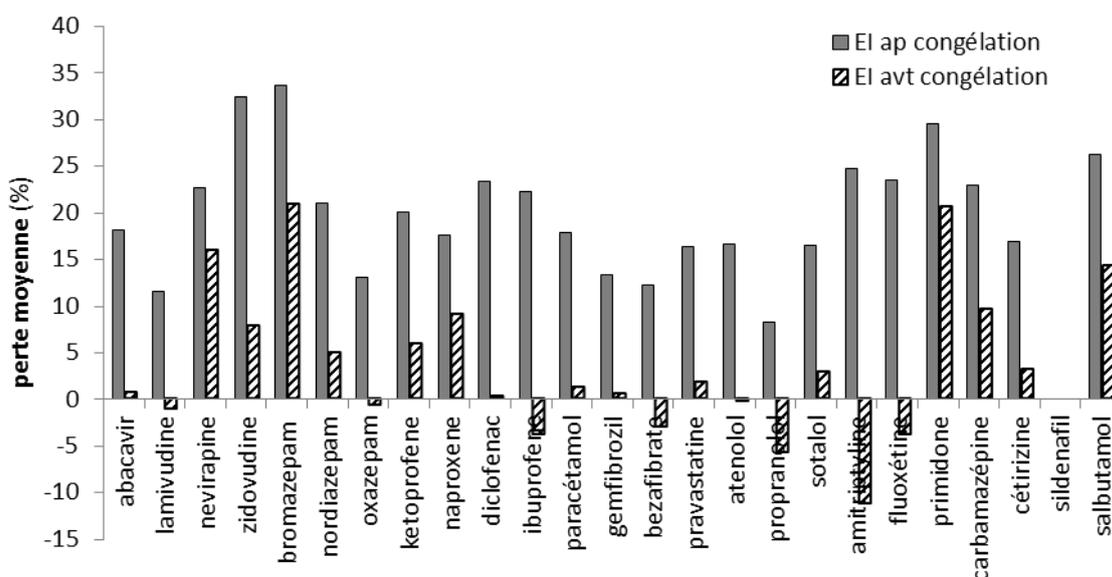


Figure 65. Pourcentage de perte entre le T0 et la moyenne des points suivants pour les molécules fidèlement quantifiées dans les eaux d'entrée en fonction du dopage en étalons internes.

Sans dopage en étalon interne avant congélation, une perte de 8 à 34 % est observée. Lorsque le dopage est effectué avant congélation, la perte paraît corrigée de manière satisfaisante pour une majorité de molécules : les différences avant-après congélation sont alors comprises dans la barre d'erreur $0 \pm 5\%$. En revanche, la correction n'est pas optimale pour les molécules suivantes (pertes supérieures à 10 %) : névirapine, bromazépine, kétoprofène, primidone et salbutamol. L'étude sur les eaux de sortie de STEP conduit aux mêmes conclusions que sur les eaux d'entrée.

Il est donc préférable de doper en étalons internes avant congélation. Toutefois, afin d'assurer l'homogénéité des méthodologies tout au long de ces travaux, cette méthode n'a pas été appliquée. La sous-estimation étant quasiment constante et systématique, les pertes observées n'invalident pas les échantillonnages conduits dans ces travaux.

Filtres UV

Les filtres UV n'ont pas fait l'objet d'un test de stabilité à la congélation. En revanche, les résultats concernant la stabilité des molécules lors de leur stockage, présentés en dans le chapitre 2, section 1.1.2, invalident l'utilisation du PEHD et préconisent le verre borosilicaté comme contenant adapté aux filtres UV.

1.5.2 Filtration

Médicaments

Une eau de sortie de station d'épuration, peu chargée en particules ($MES \approx 10 \text{ mg.L}^{-1}$), a été extraite en triplicat avec et sans filtration préalable. En l'absence de dopage de ces échantillons, seuls les analytes initialement présents dans ces eaux sont étudiés.

La Figure 66 montre que des concentrations identiques sont mesurées dans les eaux filtrées et dans les eaux brutes. L'écart observé pour les deux molécules les plus concentrées, l'acide fénofibrique et l'hydroxy-ibuprofène, est attribué à leur plus grande variabilité analytique. Ainsi, la filtration n'altère par la mesure de la concentration des molécules testées.

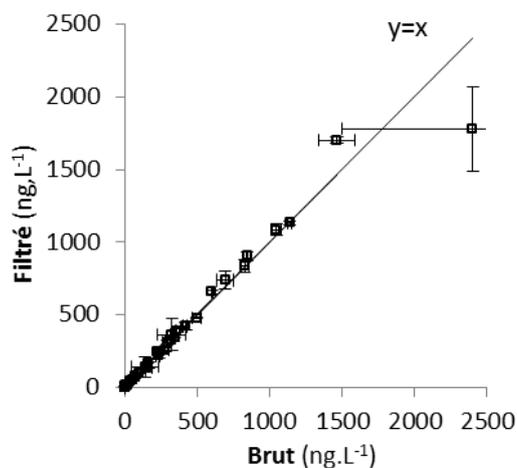


Figure 66. Comparaison des résultats d'échantillons filtrés et non filtrés. Effluent de sortie de STEP pour les 41 molécules détectées. n=3.

Filtres UV

Le test de filtration appliqué aux filtres UV diffère légèrement de celui des médicaments : il porte sur des eaux filtrées dopées et le matériau des unités a été testé. Une matrice naturelle exempte de particules a été préalablement fabriquée par filtration sur du matériel en verre d'une eau prélevée dans le ruisseau du Serpent sur la commune de Talence. Le filtrât a ensuite été dopé en analytes à $\approx 200 \text{ ng.L}^{-1}$ puis réparti en trois lots de triplicats : un témoin non re-filtré, un second re-filtré sur unité en verre et un troisième sur unité en PEHD. Les échantillons sont alors extraits et analysés

suivant le protocole usuel, avec quantification par étalonnage externe. Les résultats sont donnés Figure 67.

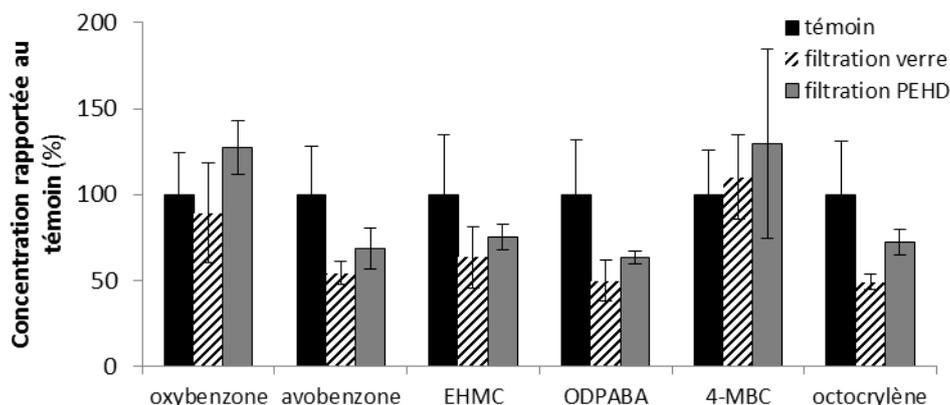


Figure 67. Concentrations rapportées au témoin pour les 6 filtres UV selon la filtration appliquée. Quantification par étalonnage externe. n=3.

Dans un premier temps, la comparaison du témoin non re-filtré aux échantillons re-filtrés indique que la filtration engendre une perte d'avobenzonone, d'ODPABA et d'octocrylène pouvant atteindre 50 % (octocrylène). Cette perte, pouvant être attribuée à la séquestration des analytes sur le filtre, pourrait artificiellement entraîner l'augmentation de la fraction particulaire et doit être prise en compte pour d'éventuelles études de partage ultérieures. D'autre part, aucun effet du matériau n'est observé puisqu'il n'y a pas de différence significative entre filtration sur verre et sur PEHD. Ce résultat illustre l'importance du temps de contact entre l'eau et l'unité : lorsque des eaux dopées sont conservées 1 h sous agitation, des pertes significatives ont été observées dans le PEHD par rapport au verre (*cf.* chapitre 2, section 1.1.2).

L'étape de filtration étant indispensable, une filtration sur matériel en verre sera appliquée dans ces travaux, tout en ayant connaissance des pertes qu'elle peut engendrer.

1.5.3 Méthode de prélèvement

Le prélèvement moyenné 24 h a fait l'objet d'une validation *in-situ* en entrée et en sortie de STEP. Environ 10 L d'effluent de STEP ont été mis dans un bidon du préleveur automatique et dans son enceinte réfrigérée pendant 24 h, mimant ainsi le vieillissement maximal que peut subir une eau après prélèvement. L'effluent vieilli a été échantillonné et comparé à un jeu de T0, l'ensemble ayant été traité en triplicat selon le protocole usuel. Cette méthode ne permet pas de tester la tuyauterie du préleveur automatique, toutefois, le contact avec cette tuyauterie est court. Les résultats sont présentés Figure 68.

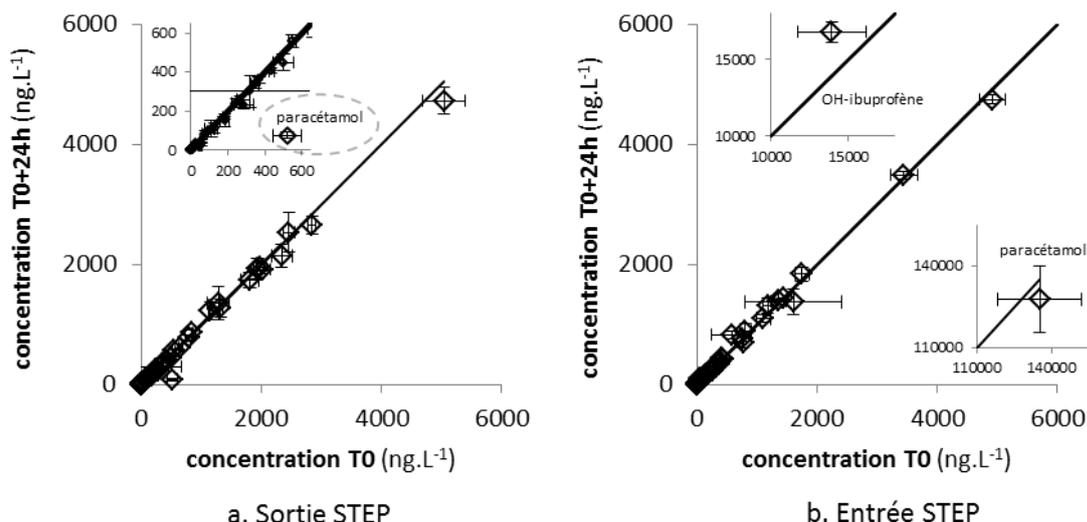


Figure 68. Comparaison des échantillons vieillis aux T0. Le paracétamol en sortie de STEP ainsi que l'hydroxy-ibuprofène et le paracétamol en entrée de STEP sont présentés en encarts.

En sortie comme en entrée de STEP, l'échantillon vieilli est similaire au T0 aux écarts-types près, à l'exception du paracétamol en sortie où les 85 % de pertes pourraient être attribués à la dégradabilité supérieure de cet analyte. Il est à noter qu'en réalité les fractions individuelles constituant l'échantillon composite du préleveur automatique sont conservées entre quelques minutes et 24 h et que l'expérience réalisée ici mime un vieillissement sur 24 h de l'intégralité du prélèvement. Les pertes observées correspondent donc à une valeur maximale de ce qui se passe réellement.

Le prélèvement moyenné 24 h est donc adapté à la majorité des molécules suivies en entrée comme en sortie de STEP mais pourrait conduire à une sous-estimation des concentrations en paracétamol en sortie de STEP. Pour cette molécule et dans ces conditions, le suivi annuel des STEP pourrait être affecté par cette perte en sortie, l'expérience de vieillissement ayant été conduite *a posteriori* du suivi.

1.6 Cas des formes conjuguées dans les effluents

Les données de métabolisation présentées dans le chapitre 1, section 4.2.3, montrant que l'excrétion de certains composés se fait sous forme glucuro- ou sulfo-conjuguée, l'objectif de cette partie est d'évaluer la part de ces formes par rapport aux formes libres dans les effluents de station d'épuration. La méthode de déconjugaison a été décrite de manière détaillée dans le chapitre 2, section 3.2.3.

1.6.1 Validation de la méthode

Dans un premier temps, afin de vérifier le bon rendement d'extraction des analytes sous leur forme libre avec l'étape supplémentaire que comporte le protocole de déconjugaison, ce dernier a été appliqué à des eaux artificiellement enrichies en composés non conjugués. Les eaux ont été dopées à 150 ng.L^{-1} en triplicats selon 3 jeux : 1) un jeu témoin, sans β -glucuronidase conservé au réfrigérateur pendant 12 h (témoin) ; 2) un jeu sans β -glucuronidase incubé à 37°C pendant 12 h ; 3) un jeu avec β -glucuronidase acidifié à pH 5 et incubé à 37°C pendant 12 h.

Les rendements moyens d'extraction sont présentés Figure 69. A l'exception de l'indinavir (à la variabilité déjà démontrée en sections 1.1.3 et 1.2.1 de ce chapitre), on n'observe pas de perte significative entre les témoins et les échantillons traités par le protocole de déconjugaison. Quelques analytes présentent des rendements supérieurs après application du protocole, en lien avec leur variabilité analytique plus marquée (nelfinavir, ritonavir, saquinavir, timolol, imipramine et losartan).

Dans un second temps, afin de tester le protocole, des échantillons d'eau minérale Vittel artificiellement enrichis en une sélection d'analytes glucuro-conjugués ont été déconjugés. Un volume de 50 mL d'eau minérale Vittel est enrichi à $40 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ d'ibuprofène, de naproxène, de diclofénac et de gemfibrozil glucuronidés, les concentrations élevées permettant de s'affranchir de la reconcentration par SPE et de travailler en injection directe. Le protocole de déconjugaison est appliqué et la présence des formes libres générées est caractérisée avec la méthode analytique de routine. Un jeu de témoin non déconjugué est également préparé.

Les formes libres de diclofénac et de naproxène, contenues dans la solution de dopage glucuronidée, sont détectées dans les témoins à hauteur de 11 et 4 %, quantité qui a été retranchée des formes libres formées. Après application du protocole et en raisonnant en quantité de matière, le taux de déconjugaison, défini comme le taux d'avancement de la réaction de déconjugaison, est calculé en pourcentage (Tableau 40).

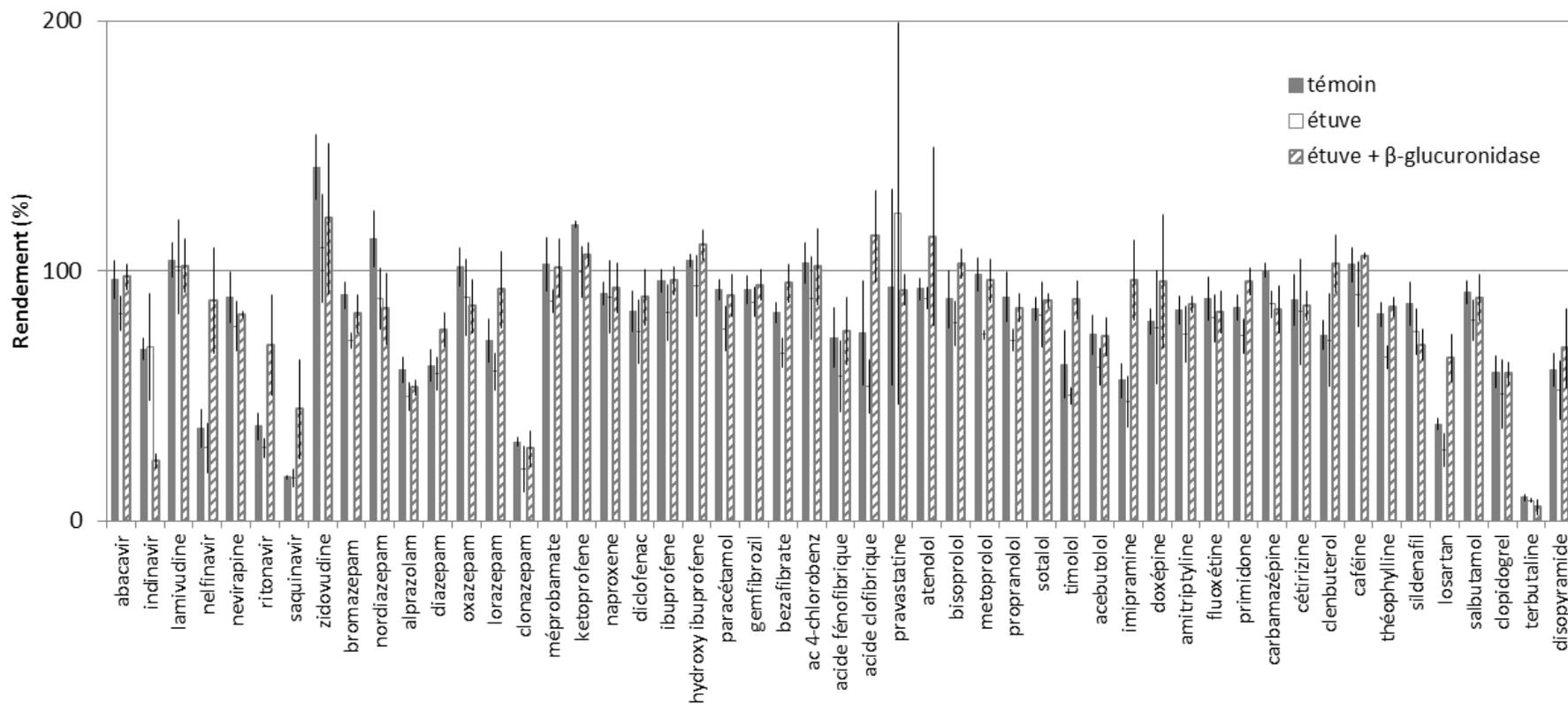


Figure 69. Rendements d'extraction moyens par jeu d'échantillons d'eau minérale Vittel dopés suivant le protocole appliqué. n=3.

Tableau 40. Avancement (%) de la réaction de déconjugaison par analyte après application du protocole de déconjugaison sur des étalons glucuronidés. n=3.

	pourcentage de déconjugaison
naproxène	73 ± 5
diclofénac	95 ± 2
ibuprofène	77 ± 5
gemfibrozil	40 ± 2

La déconjugaison est quasi-totale pour le diclofénac, le naproxène et l'ibuprofène. Le protocole de déconjugaison permet l'hydrolyse de la fonction glucuronide et donc la régénération de la forme libre, il est envisageable de l'appliquer à des échantillons réels.

Des protocoles de déconjugaison enzymatique similaires sont détaillés dans la littérature, essentiellement pour l'analyse des hormones conjuguées. Belfroid *et al.* (1999) applique une étape de déconjugaison enzymatique sur l'échantillon extrait par SPE et obtient un rendement de 59 ± 3 % pour l'analyse de 17 β -estradiol-glucuronide. Cette même hormone ainsi que le 17 β -estradiol sulfoconjugué sont extraits avec des rendements de 84 et 92 % dans l'étude de Labadie et Budzinski (2005) par solvolysse et hydrolyse enzymatique des extraits.

1.6.2 Application à des effluents de STEP

L'entrée et la sortie de la STEP Clos de Hilde le 29 mai 2012 (prélèvement instantané) ont été analysés en triplicats par le protocole classique avec et sans déconjugaison préalable. Le rapport de la concentration des analytes dans les échantillons déconjugués (fraction libre + conjuguée) à celle dans les échantillons non traités (fraction libre) est calculé en entrée et en sortie de STEP (Figure 70).

En entrée comme en sortie, les rapports de concentration ne sont pas significativement supérieurs à 1 : les médicaments sous forme conjuguée sont donc absents des effluents d'entrée et de sortie de STEP. Le même plan expérimental appliqué à des échantillons moyennés 24 h de la STEP Louis Fargue prélevés les 29, 30 et 31 mai 2012 donne des résultats similaires (Figure 71).

Les résultats précédents paraissent en contradiction avec les données de métabolisation des médicaments analysés qui confirment la présence de formes glucuro-conjuguées lors de l'excrétion dans les urines (*cf.* chapitre 1, section 4.2.3). La concentration en enzyme pourrait avoir une influence sur la déconjugaison d'effluents. En effet, en raison de la complexité des matrices, une perte d'efficacité de la β -glucuronidase pourrait être envisagée aux concentrations du protocole. La concentration en enzyme a donc été augmentée d'un facteur 20 en ajoutant 200 μ L d'enzyme à 10 mL de prise d'essai d'une eau d'entrée de STEP de Clos de Hilde du 3 octobre 2011 puis comparée à un témoin non déconjugué, le tout traité en triplicats. En l'absence de rapport supérieur à 1 aux écarts-types près, les résultats présentés sur la Figure 72 confirment l'observation précédente d'absence de formes conjuguées en entrée de STEP et n'invalident pas le protocole de déconjugaison. Les rapports inférieurs à 1 sont attribués à des dégradations lors de la mise à l'étuve pendant 12 h.

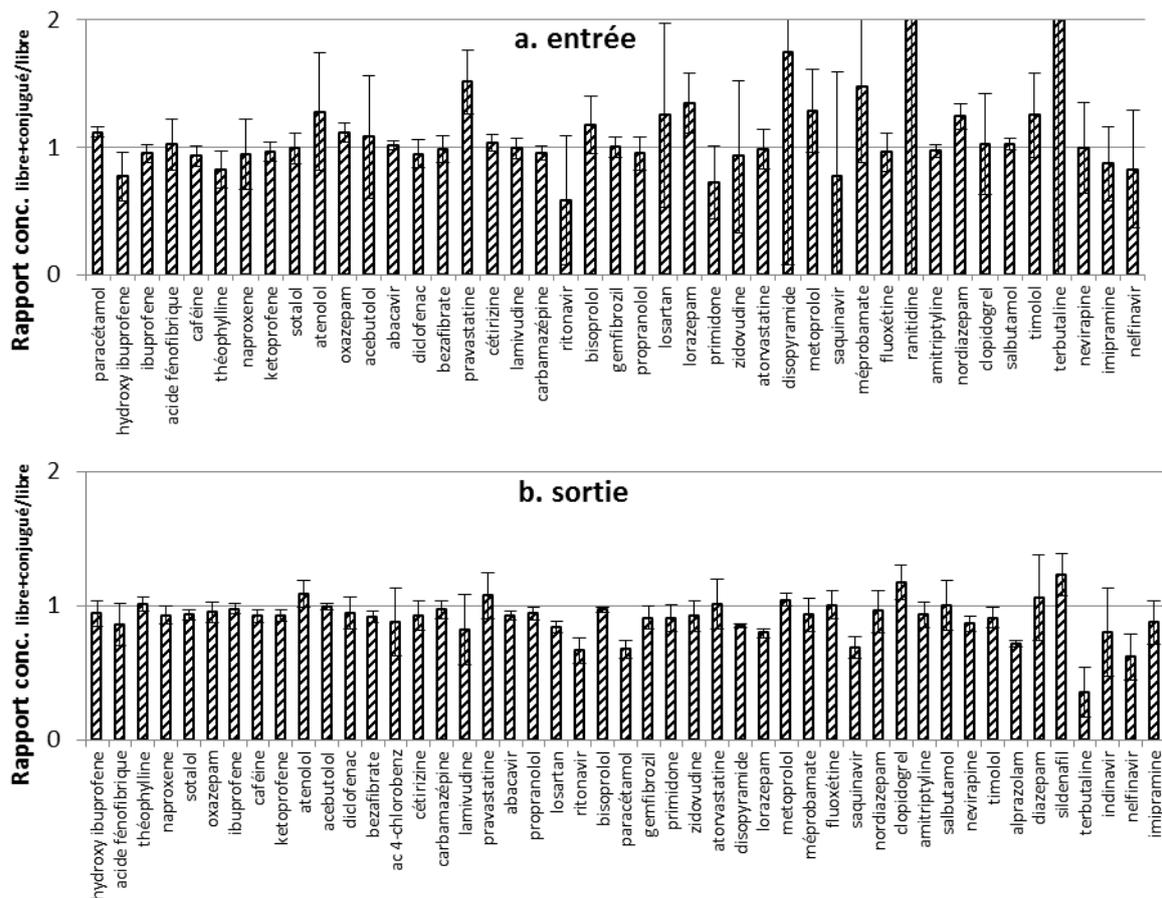


Figure 70. Rapports de concentration entre les échantillons ponctuels traités et non traités par le protocole de déconjugaison. Les molécules sont rangées par ordre décroissant de concentration dans l'effluent concerné. n=3.

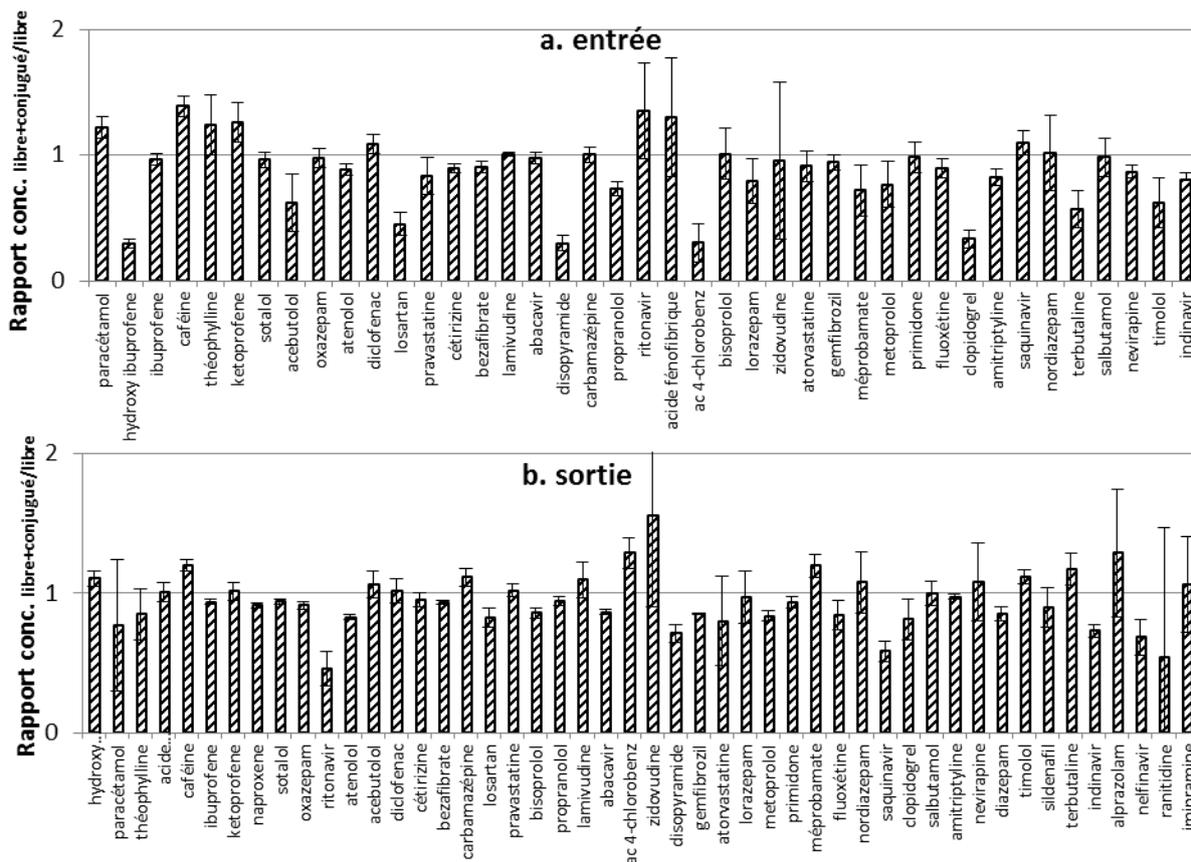


Figure 71. Rapports de concentration entre les échantillons moyennés 24 h du 29, 30 et 31 mai 2012 traités et non traités par le protocole de déconjugaison. Les molécules sont rangées par ordre décroissant de concentration dans l'effluent concerné. n=3.

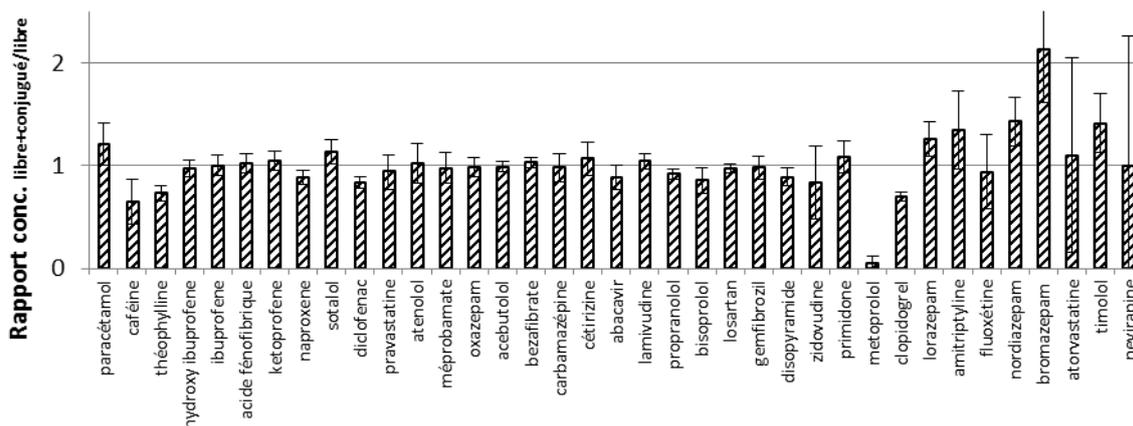


Figure 72. Rapports de concentration entre les échantillons d'entrée traités et non traités par le protocole de déconjugaison avec augmentation de la concentration en enzyme. Les molécules sont rangées par ordre décroissant de concentration dans l'effluent. n=3.

Ainsi, après leur émission dans les eaux usées résiduelles, les médicaments sous forme conjuguée pourraient être déconjugués dans les réseaux vraisemblablement par action de la β -glucuronidase

secrétée par les bactéries fécales (*Escherichia coli*) s’y trouvant (D’Ascenzo *et al.*, 2003). Les réseaux d’eaux usées pourraient donc se comporter comme un premier incubateur de dégradation des effluents urbains avant arrivée en STEP. Reddy *et al.* (2005) ont reporté de faibles concentrations en stéroïdes glucuronidés relativement aux formes libres en entrée de STEP, les auteurs attribuant ces faibles concentrations à une déconjugaison spontanée dans le réseau. Dans le cas du paracétamol, son dérivé glucuronidé n’a pas été détecté en entrée de STEP malgré les concentrations élevées de la forme libre et l’excrétion sous forme conjuguée du paracétamol (Sunkara et Wells, 2010). Les dérivés glucuronidés d’atorvastatine, diclofénac, oxazépam, propranolol et sulfaméthoxazole n’ont pas été détectés dans les eaux souterraines sous Barcelone, et ce même si les formes libres y étaient presque systématiquement détectées (López-Serna *et al.*, 2013). Kumar *et al.* (2012) ont estimé à 0,4 h le temps de demi-vie d’estrone et d’estradiol conjugué dans les effluents urbains bruts contre 2 j en eau de rivière et ont observé la génération des formes libres associées.

L’absence de formes conjuguées dans les effluents d’entrée de STEP de Bordeaux permet ainsi d’étendre le constat de labilité des stéroïdes conjugués aux formes conjuguées des médicaments du protocole de ces travaux.

Par conséquent, l’extrapolation aux sources ou aux contributions par habitant (exemple de l’évaluation de la consommation de drogues illicites), à partir de concentrations relevées en entrée de STEP, ne peut en toute rigueur s’affranchir d’une étude préalable de l’influence du transit des eaux dans les égouts sur les concentrations mesurées.

1.7 Conclusions

Les tests méthodologiques conduits dans cette partie permettent de qualifier les performances de l’intégralité du protocole, de l’échantillonnage à la quantification. Les différentes conclusions sont listées ci-dessous dans l’ordre des étapes du protocole, il convient de se référer à chaque partie pour le détail et les conditions d’application de chaque conclusion.

Aspects préparatifs

L’**échantillonnage** par préleveur automatique assure une bonne conservation des médicaments de l’étude. En revanche, en raison de la tuyauterie et des contenants en plastique, il est inadapté aux filtres UV, ceux-ci montrant une adsorption pouvant atteindre 95 % de la quantité initiale sur le contenant (*cf.* chapitre 2, section 1.1.2). Une version adaptée composée d’une tuyauterie en Teflon et de bonbonne en verre pourrait cependant être testée.

La **filtration** n’altère pas la composition des échantillons en médicaments mais est susceptible d’entraîner jusqu’à 50 % de perte des filtres UV les plus hydrophobes (avobenzone, ODPABA et octocrylène), même si du matériel en verre est utilisé.

La **conservation** des échantillons à -20°C en vue de l’analyse des médicaments est envisageable au moins un an. Néanmoins, une perte d’approximativement 20 % de la composition initiale en composés est observée, même pour de faibles durées de congélation (1 semaine). Cette perte n’est pas due à la séquestration des analytes dans le contenant mais plus vraisemblablement à une

dégradation. L'ajout d'étalons internes préalablement à la congélation permet de compenser cette perte.

Les méthodes d'**extraction** d'eaux, de matrices solides et de phase réceptrice de POCIS ont montré de bons rendements, dans une gamme de 80 à 120 % pour 44, 39 et 48 médicaments, respectivement. Les rendements d'extraction des filtres UV sont globalement plus variables, en raison de l'absence d'homologues marqués comme étalons internes pour 5 des 6 analytes. Les rendements restent toutefois dans une gamme tout à fait acceptable de 50 à 120 %. Par ailleurs, l'extraction d'eaux par SPE est sujette à des pertes aux différentes étapes du protocole : lors de la percolation, lors de la reconcentration sous flux et lors du transfert en flacons d'injection. Concernant la percolation, les filtres UV, plus hydrophobes, ont montré une bonne affinité avec la phase et un volume de fuite supérieur à 1 L.

Aspects instrumentaux

La **linéarité** des analytes a été validée sur la gamme testée. La **répétabilité** est bonne, avec une variabilité inférieure à 10 % pour les filtres UV et pour 39 des médicaments et inférieure à 30 % pour les 8 autres médicaments testés.

Les tests de **robustesse** sur deux années d'analyse (protocole « médicaments ») ont montré une certaine variabilité des coefficients de réponse, correctement compensée par un étalonnage systématique en début de séquence d'analyse.

La **sensibilité** mesurée est compatible avec les niveaux de concentration attendus dans l'environnement. Toutefois, lors de l'analyse d'extraits d'eaux d'entrée de STEP, des **effets de matrice** peuvent éteindre le signal (jusqu'à 50 fois), élargir les pics chromatographiques (jusqu'à un facteur 4), augmenter le bruit de fond et augmenter les temps de rétention, cela dégradant la sensibilité de la méthode pour les molécules affectées.

Aspects quantitatifs

Les pertes dues aux étapes préparatives ainsi que les effets de matrice étant propres à chaque composé d'intérêt, il est recommandé d'utiliser les **homologues marqués** des analytes comme étalons internes afin d'assurer une quantification rigoureuse. Dans le cas contraire, la variabilité des mesures est augmentée et des sous-estimations ou surestimations sont possibles. Il convient alors d'évaluer le comportement des analytes à chaque étape et d'y associer le plus souvent possible un étalon interne à comportement équivalent. Lors de l'établissement de méthodes de référence, cela peut aller jusqu'à la fabrication à façon de l'étalon interne correspondant à chaque analyte, s'il n'est pas commercialement disponible. Dans le cas des filtres UV, le lien entre la justesse du rendement d'extraction et l'adéquation de l'hydrophobie de l'étalon interne et de l'analyte a été démontré.

Cas des formes conjuguées

L'absence de formes conjuguées dans les effluents d'entrée et de sortie de STEP justifie le protocole appliqué dans ces travaux qui ne nécessite pas l'application d'une étape de déconjugaison préalable pour évaluer les concentrations totales en médicaments.

Chapitre 3.2 : Développement des POCIS

2.1	Calibrations en laboratoire.....	185
2.1.1	Cas des médicaments.....	185
2.1.2	Cas des filtres UV.....	191
2.1.3	Méthodologie de calcul des concentrations équivalentes dans l'eau	193
2.2	Validation <i>in-situ</i>	199
2.3	Application de l'outil à la Jalle de Blanquefort.....	204
2.4	Application de l'outil à la Gironde.....	205
2.4.1	Cas des désorptions des PRC.....	205
2.4.2	Cas des constantes d'élimination (k_e).....	209
2.4.3	Cas des concentrations équivalentes dans l'eau.....	212
2.4.4	Comparaison des méthodes de calcul.....	214
2.5	Conclusions.....	216

2 Développement des POCIS

L'application des échantillonneurs passifs de type POCIS au suivi d'un hydrosystème nécessite une calibration préalable en laboratoire, permettant à la fois d'étudier le comportement des analytes vis-à-vis de l'échantillonneur et de déterminer les taux d'échantillonnage (R_s) pour les analytes à accumulation linéaire (principe de fonctionnement détaillé dans le chapitre 2, section 2). Ces travaux préliminaires font l'objet de la section 2.1 de ce chapitre puis la justesse des concentrations équivalentes calculées sera vérifiée par comparaison aux concentrations mesurées par prélèvement ponctuel dans le cadre d'une campagne de suivi quotidien (section 2.2). Enfin, les paramètres décrivant le fonctionnement des POCIS exposés dans la Jalle de Blanquefort (section 2.3) et en Gironde (section 2.4) seront examinés afin de valider la méthodologie de calcul.

2.1 Calibrations en laboratoire

Les résultats des calibrations sont donnés par classe de molécules. En comparaison aux filtres UV, les médicaments ont fait l'objet d'un plus grand nombre d'expériences et l'application environnementale qui en découle est plus développée. D'autre part, le cas des filtres UV diffère en raison de l'utilisation d'une version adaptée des échantillonneurs, dits POCIS-Nylon (Belles *et al.*, 2013a).

2.1.1 Cas des médicaments

Trois expériences ont permis la calibration des médicaments, la calibration 3 (concentrations élevées et ajout d'antioxydant) ayant été réalisée en association avec l'étude de Dufour (2013). Les taux d'échantillonnage mesurés pour 46 des 53 analytes sont donnés dans le Tableau 41. Le taux d'échantillonnage a été calculé par régression linéaire du rapport $\frac{C_{POCIS}}{C_{eau}} \times m_{phase}$ en fonction du temps, en forçant l'ordonnée à l'origine par 0, selon la méthode utilisée par Mazzella *et al.* (2007). C_{POCIS} est la concentration d'un analyte dans la phase réceptrice en $ng.g^{-1}$; C_{eau} la concentration moyenne en $ng.L^{-1}$ de cet analyte dans l'eau à laquelle a été exposé le POCIS considéré (moyenne des prélèvements d'eau associés); m_{phase} la masse de phase réceptrice du POCIS en g. L'indinavir a été exclu en raison de sa mauvaise répétabilité analytique (*cf.* chapitre 3.1, section 1.1.3). Le paracétamol, qui atteint rapidement l'équilibre dans les POCIS (Belles, 2012), a également été exclu. L'exemple de molécules à accumulation linéaire, atteignant l'équilibre, s'approchant de l'équilibre ou affectées d'un temps de latence est donné Figure 73. Les taux d'échantillonnage des composés à temps de latence ont été calculés sur l'intégralité de l'accumulation, ils sont donc inférieurs aux taux d'échantillonnage définis par leur régime linéaire.

Tableau 41. Comportement observé et taux d'échantillonnage pour 46 analytes. NC : non calculable. Le taux d'échantillonnage n'est pas calculé lorsque la molécule atteint l'équilibre.

Analyte	Calibration 1		Calibration 2		Calibration 3	
	comportement	R_s L_j^{-1}	comportement	R_s L_j^{-1}	comportement	R_s L_j^{-1}
abacavir	-	-	-	-	s'approche de l'équilibre	0,39
indinavir	-	-	-	-	-	-
lamivudine	atteint l'équilibre	NC	-	-	-	-
nelfinavir	temps de latence	0,05	-	-	temps de latence	0,35
névirapine	-	-	-	-	linéaire	0,47
ritonavir	-	-	-	-	temps de latence	0,55
saquinavir	temps de latence	0,10	-	-	temps de latence	0,62
zidovudine	linéaire	0,07	-	-	-	-
bromazépam	-	-	-	-	linéaire	0,28
nordiazépam	-	-	-	-	linéaire	0,30
alprazolam	linéaire	0,22	-	-	linéaire	0,35
diazépam	linéaire	0,18	-	-	linéaire	0,25
oxazépam	linéaire	0,19	linéaire	0,34	linéaire	0,34
lorazépam	linéaire	0,18	linéaire	0,37	linéaire	0,37
clonazépam	linéaire	0,19	linéaire	0,45	linéaire	0,38
méprobamate	linéaire	0,10	linéaire	0,24	s'approche de l'équilibre	0,37
kétoprofène	-	-	-	-	-	-
naproxène	-	-	-	-	-	-
diclofénac	-	-	-	-	-	-
ibuprofène	-	-	-	-	-	-
hydroxy-ibuprofène	atteint l'équilibre	NC	-	-	-	-
paracétamol	-	-	-	-	-	-
gemfibrozil	-	-	-	-	-	-
bézafibrate	-	-	linéaire	0,31	s'approche de l'équilibre	0,32
acide 4-chlorobenzoïque	-	-	atteint l'équilibre	NC	-	-
acide fénofibrique	linéaire	0,17	-	-	-	-
acide clofibrique	-	-	atteint l'équilibre	NC	-	-
pravastatine	-	-	linéaire	0,37	-	-
atorvastatine	linéaire	0,04	-	-	-	-
aténolol	-	-	-	-	s'approche de l'équilibre	0,22
bisoprolol	linéaire	0,14	-	-	linéaire	0,23
métoprolol	-	-	-	-	linéaire	0,20
propranolol	-	-	-	-	linéaire	0,43
sotalol	s'approche de l'équilibre	0,05	-	-	s'approche de l'équilibre	0,25
timolol	linéaire	0,22	-	-	linéaire	0,43
acébutolol	linéaire	0,11	-	-	linéaire	0,33
imipramine	linéaire	0,23	-	-	linéaire	0,30

Analyte	Calibration 1		Calibration 2		Calibration 3	
	comportement	R_s L_j^{-1}	comportement	R_s L_j^{-1}	comportement	R_s L_j^{-1}
doxépine	linéaire	0,15	-	-	linéaire	0,44
amitriptyline	linéaire	0,25	-	-	linéaire	0,25
fluoxétine	linéaire	0,18	-	-	linéaire	0,35
primidone	-	-	linéaire	0,18	s'approche de l'équilibre	0,36
carbamazépine	linéaire	0,16	-	-	linéaire	0,48
cétirizine	linéaire	0,15	-	-	linéaire	0,22
ranitidine	linéaire	0,11	-	-	s'approche de l'équilibre	0,19
clenbuterol	-	-	-	-	linéaire	0,33
caféine	-	-	-	-	équilibre	NC
théophylline	-	-	-	-	équilibre	NC
sildénafil	-	-	-	-	linéaire	0,23
losartan	linéaire	0,29	-	-	linéaire	0,25
salbutamol	-	-	-	-	s'approche de l'équilibre	0,15
clopidogrel	temps de latence	0,11	-	-	temps de latence	0,51
terbutaline	-	-	-	-	équilibre	NC
disopyramide	-	-	linéaire	0,24	linéaire	0,31

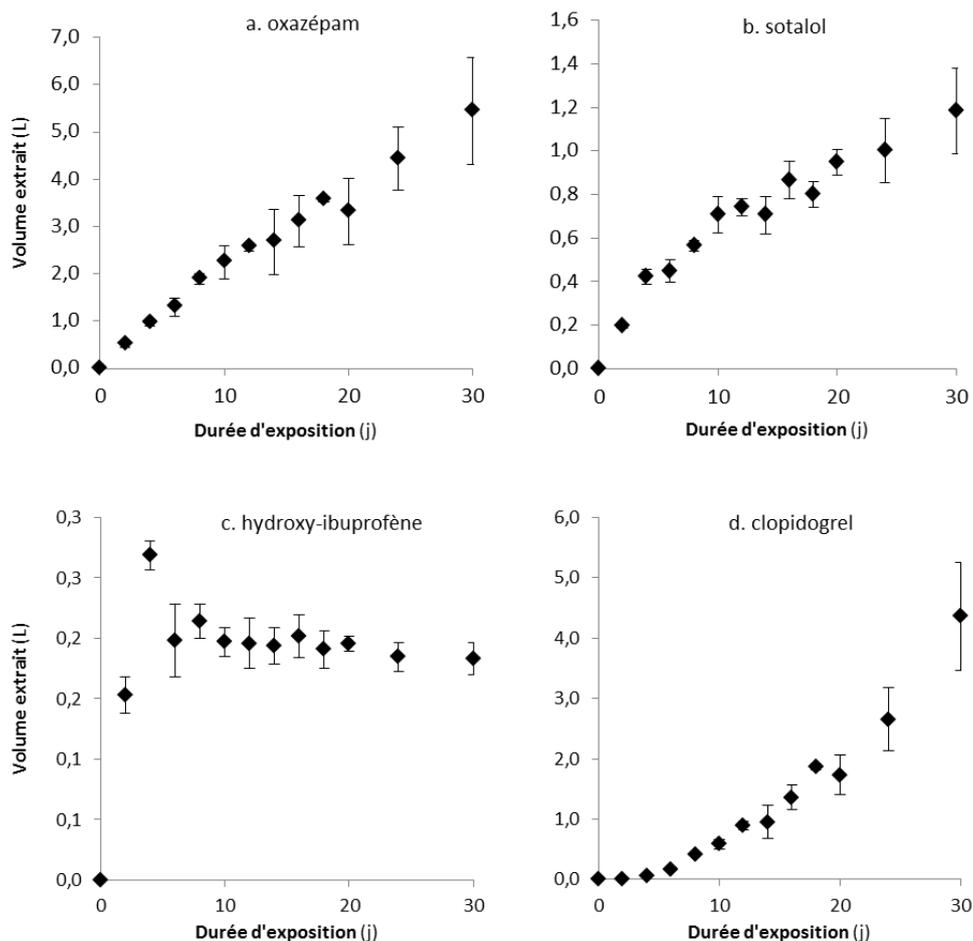


Figure 73. Exemples de comportements d'accumulation d'analyte dans les POCIS : accumulation linéaire (a), approche d'équilibre (b), équilibre rapidement atteint (c) et accumulation à temps de latence (d). L'ordonnée correspond au calcul $\frac{C_{POCIS}}{C_{eau}} \times m_{phase}$, le taux d'échantillonnage étant la tangente à cette courbe. Données issues de la calibration 1.

L'existence d'un temps de latence, également observé par Harman *et al.* (2008), est attribué à l'adsorption préférentielle des analytes sur la membrane et à la cinétique de leur transfert vers la phase réceptrice (Belles *et al.*, 2013a). La quantification de ces molécules, pour lesquelles le taux d'échantillonnage est calculé sans exclure la phase de latence, est donc affectée d'une plus forte variabilité puisque le taux d'échantillonnage varie avec le temps. Ces molécules, ainsi que celles s'approchant de l'équilibre, sont donc considérées comme semi-quantitatives.

L'examen des temps de demi-équilibre d'accumulation permet de comparer les cinétiques d'accumulation des composés (Tableau 42). A titre d'exemple, les benzodiazépines, aux taux d'échantillonnage relativement élevés (Tableau 41), présentent également des $t_{1/2}$ supérieurs aux durées des calibrations. Leur accumulation linéaire à l'échelle des durées des expositions *in-situ* assure une quantification rigoureuse de ces analytes. La cinétique de la calibration 3 a été plus rapide que celle des autres calibrations puisque plusieurs temps de demi-équilibre y sont inférieurs. La variabilité inter-calibrations peut être approchée par la comparaison des $t_{1/2}$ des bézafibrate, timolol, doxépine, primidone et ranitidine qui varient d'un facteur 3 entre calibrations.

Tableau 42. Temps de demi-équilibre d'accumulation ($t_{1/2}$) mesurés dans les 3 calibrations. En l'absence d'inflexion de la courbe d'accumulation, le $t_{1/2}$ est donné supérieur à la durée d'exposition totale des POCIS.

Analyte	$t_{1/2}$ (j)			Analyte	$t_{1/2}$ (j)		
	Cal. 1	Cal. 2	Cal. 3		Cal. 1	Cal. 2	Cal. 3
abacavir	-	-	8	pravastatine	-	> 20	-
indinavir	-	-	-	atorvastatine	> 30	-	-
lamivudine	2	-	-	aténolol	-	-	4
nelfinavir	-	-	> 15	bisoprolol	> 30	-	> 15
névirapine	-	-	11	métoprolol	-	-	> 15
ritonavir	-	-	> 15	propranolol	-	-	8
saquinavir	-	-	> 15	sotalol	9	-	4
zidovudine	16	-	-	timolol	28	-	9
bromazépam	-	-	> 15	acébutolol	14	-	8
nordiazépam	-	-	> 15	imipramine	> 30	-	> 15
alprazolam	> 30	-	> 15	doxépine	> 30	-	8
diazépam	> 30	-	> 15	amitriptyline	> 30	> 20	> 15
oxazépam	> 30	> 20	> 15	fluoxétine	> 30	-	14
lorazépam	> 30	> 20	> 15	primidone	-	14	3
clonazépam	> 30	> 20	> 15	carbamazépine	17	-	12
méprobamate	13	17	7	cétirizine	> 30	-	> 15
kétoprofène	-	-	-	ranitidine	> 30	-	8
naproxène	-	-	-	clenbuterol	-	-	> 15
diclofénac	-	-	-	caféine	-	-	2
ibuprofène	-	-	-	théophylline	-	-	1
hydroxy- ibuprofène	1	-	-	sildénafil	-	-	> 15
paracétamol	-	-	-	losartan	> 30	-	> 15
gemfibrozil	-	-	-	salbutamol	-	-	4
bézafigrate	-	> 20	7	clopidogrel	-	-	> 15
acide 4- chlorobenzoïque	-	< 3	-	terbutaline	-	-	4
acide fénofibrique	> 30	-	-	disopyramide	-	> 20	> 15
acide clofibrique	-	2	-				

Cette variabilité est également observée sur les taux d'échantillonnage, avec un facteur moyen de 3 entre la calibration 3 et la calibration 1, toutes molécules confondues. Aussi, l'application d'un taux d'échantillonnage inapproprié aux conditions d'exposition peut engendrer la détermination d'une concentration équivalente dans l'eau faussée (Mazzella *et al.*, 2010). L'approche PRC pour composés de référence et de performance, développée pour les POCIS par Belles *et al.* (2013b), Lissalde *et al.* (2011), Mazzella *et al.* (2010), est ici appliquée dans le but de s'affranchir de ces variations en permettant d'ajuster les taux d'échantillonnage déterminés en laboratoire aux conditions d'exposition réelles. A titre d'exemple, la Figure 74 présente les dissipations observées pour les 3 PRC préalablement introduits dans la phase réceptrice, caféine ^{13}C , salbutamol d3 et DIA d5, dans la calibration 1. Les constantes de dissipation (k_e) des trois PRC dans les 3 calibrations effectuées, déterminées à partir de la formule $C_{PRC}(t) = C_{0\ PRC} \cdot e^{-k_e t}$ (Belles *et al.*, 2013b), sont données dans le Tableau 43.

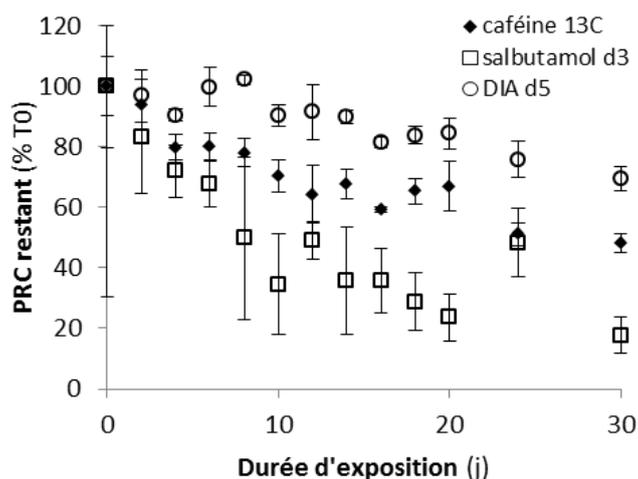


Figure 74. Dissipation des PRC dans le cas de la calibration 1.

Tableau 43. Constantes d'élimination des PRC pour les 3 calibrations effectuées.

PRC	Constante d'élimination j^{-1}		
	Cal 1	Cal 2	Cal 3
caféine ^{13}C	$0,027 \pm 0,001$	$0,093 \pm 0,003$	$0,048 \pm 0,002$
salbutamol d3	$0,062 \pm 0,005$	$0,142 \pm 0,005$	$0,116 \pm 0,007$
DIA d5	$0,010 \pm 0,001$	$0,065 \pm 0,003$	$0,072 \pm 0,004$

En 30 j dans la calibration 1, la caféine ^{13}C , le salbutamol d3 et la DIA d5 ont atteint respectivement 48, 18 et 70 % de désorption. Le salbutamol D3 a présenté la cinétique d'élimination la plus élevée, suivi de la caféine ^{13}C et de la DIA D5. La calibration 3, réalisée dans des bacs de 25 L agités par pales de brassage, a montré les désorptions les plus rapides. La plus faible cinétique des calibrations 1 et 2 est attribuée au design expérimental, avec un grand volume agité par pompe immergée. En outre, les POCIS de la calibration 1 étaient disposés de façon orthogonale aux lignes de courant ce qui a vraisemblablement réduit le brassage.

A titre d'exemple, les taux d'échantillonnage de la calibration 1 sont recalculés à partir de ceux de la calibration 3 et de la formule de correction PRC donnée ci-dessous (Mazzella *et al.*, 2010). Les taux d'échantillonnage corrigés sont calculés pour chaque PRC, ceux-ci étant finalement moyennés en une unique valeur prenant en compte les 3 PRC (la compilation des taux d'échantillonnage est abordée dans la section 2.1.3).

$$R_S^{in situ} = R_S^{labo} \cdot \frac{k_e^{in situ}}{k_e^{labo}}$$

Le rapport moyen des taux d'échantillonnage de la calibration 3 sur ceux de la calibration 1, toutes molécules confondues, passe alors de $2,7 \pm 1,7$ avant correction à $0,9 \pm 0,6$ après, rendant homogènes les résultats entre calibrations. En laboratoire, l'approche couplée des taux d'échantillonnage et des PRC permet donc de compenser les variations de cinétique observées.

2.1.2 Cas des filtres UV

Les 6 filtres UV ont fait l'objet d'une calibration comparée dans des POCIS classiques (phase réceptrice Oasis HLB, membrane en PES de porosité 0,1 μm) et dans une version adaptée des échantillonneurs, dits POCIS-Nylon (phase réceptrice Oasis HLB, membrane en Nylon de porosité 30 μm). En outre, les conditions de la calibration leur sont spécifiques, une expérience préliminaire ayant montré l'instabilité des concentrations des filtres UV dans les eaux de la calibration pour le protocole expérimental usuel appliqué aux médicaments. Cette observation a également été confirmée par de mauvais rendements pour l'extraction d'eau du robinet enrichie en filtres UV, la perte étant attribuée à une oxydation des analytes par le chlore actif contenu dans cette eau. Les calibrations doivent donc être conduites dans de l'eau permutée ou dans de l'eau du robinet neutralisée par un agent antioxydant. Le choix s'est ici porté sur l'ajout de thiosulfate de sodium (en excès à 100 mg.L^{-1}) dans les aquariums d'alimentation en eau du bac de contamination (US EPA, 2007). En outre, un aquarium cylindrique, exempt de joints en silicone, ainsi qu'une hélice de brassage en verre ont été utilisés afin de prévenir une éventuelle adsorption des analytes. Enfin, la surverse n'a pas été opérée par débordement mais par une aspiration en fond d'aquarium puisque les filtres UV fluides à température ambiante (ODPABA et octocrylène), de densité plus faible et de solubilité dans l'eau très limitée, risqueraient de former un film en surface. En l'absence de chlore dans l'eau, un important biofilm s'est développé dans le bac d'exposition, en particulier à la surface des échantillonneurs et au sein de la phase réceptrice.

Dans ces conditions, la concentration est restée stable dans le bac d'exposition, permettant l'évaluation des performances de POCIS à membrane PES et Nylon par leur comportement et leur taux d'échantillonnage (Tableau 44). Les taux d'échantillonnage des composés à temps de latence ont été calculés sur l'intégralité de l'accumulation, ils sont donc inférieurs au taux d'échantillonnage définis par leur régime linéaire. Les taux d'échantillonnage des composés atteignant l'équilibre sont calculés sur le domaine de linéarité de 7 j. Les courbes d'accumulation des filtres UV et du diazépam (utilisé comme contrôle) pour les 2 types d'échantillonneurs sont données Figure 75 et les constantes d'élimination des PRC sont données dans le Tableau 45.

Tableau 44. Comportement et taux d'échantillonnage des filtres UV et du diazépam. Les taux d'échantillonnage dans les POCIS Nylon sont calculés sur le domaine de linéarité de 7 j.

Analyte	PES		Nylon		
	comportement	R_s L_j^{-1}	comportement	R_s (7 j) L_j^{-1}	
filtres UV	Oxybenzone	temps de latence	0,0071	atteint l'équilibre	0,27
	Avobenzone	temps de latence	0,00014	atteint l'équilibre	0,0086
	EHMC	temps de latence	0,00035	atteint l'équilibre	0,17
	ODPABA	temps de latence	0,0020	atteint l'équilibre	0,13
	4-MBC	temps de latence	0,19	atteint l'équilibre	0,37
	Octocrylène	temps de latence	0,00021	atteint l'équilibre	0,018
contrôle	Diazépam	linéaire	0,17	atteint l'équilibre	0,48

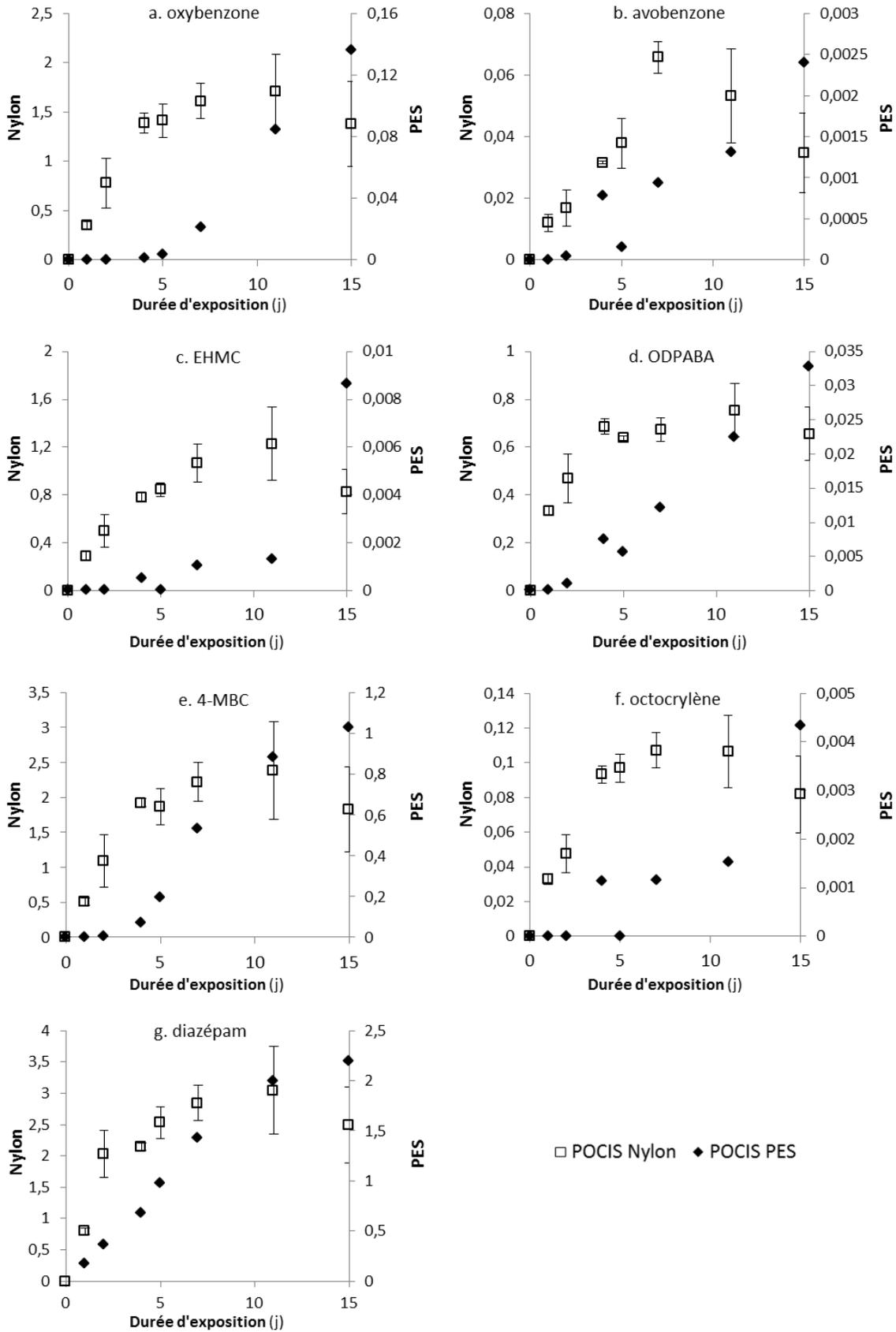


Figure 75. Courbes d'accumulation des filtres UV dans les POCIS à membrane Nylon et les POCIS à membrane PES. L'ordonnée correspond au calcul $\frac{C_{POCIS}}{C_{eau}} \times m_{phase}$, exprimé en litre, le taux d'échantillonnage étant directement la pente de cette courbe. POCIS Nylon : n=3, POCIS PES : n=1.

Tableau 45. Constantes d'élimination obtenues pour la calibration des filtres UV.

PRC	Constante d'élimination j ⁻¹	
	PES	Nylon
caféine ¹³ C	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,01
salbutamol d3	0,07 ± 0,01	0,10 ± 0,01
DIA d5	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01

Le diazépam a été utilisé comme contrôle de la validité de la calibration. Son taux d'échantillonnage a été recalculé par la méthode précédente de correction PRC avec les données de la calibration filtres UV médicaments et les constantes d'élimination de la calibration 3. Le calcul donne $R_{s\ cal\ 3\ recalculé} = R_{s\ cal\ FUV} \frac{k_{e\ cal\ 3}}{k_{e\ cal\ FUV}} = 0,22 \pm 0,07\ L.j^{-1}$, et, par adéquation au taux d'échantillonnage mesuré dans la calibration 3 « médicaments » (0,25 L.j⁻¹), valide l'expérience de calibration des filtres UV.

Les POCIS équipés de membranes en PES ont montré un temps de latence de 2 à 5 j vis-à-vis des 6 filtres UV, cette observation ayant déjà été faite pour le 4-MBC par Morin *et al.* (2013). Par ailleurs, seuls le 4-MBC a un taux d'échantillonnage non négligeable, supérieur à 0,01 L.j⁻¹. Ces résultats sont attribués à l'adsorption préférentielle de ces analytes hydrophobes sur la membrane et à la cinétique de leur transfert vers la phase réceptrice, qui est considérablement ralenti. Les POCIS à membrane en Nylon n'ont pas été affectés par ce temps de latence et une phase d'accumulation linéaire de 7 j au-delà de laquelle les analytes atteignent tous l'équilibre a été observée. Les valeurs de taux d'échantillonnage traduisent une cinétique plus rapide dans les POCIS Nylon que dans les POCIS PES, l'oxybenzone et le 4-MBC présentant par ailleurs des taux d'échantillonnage de l'ordre de celui du diazépam. Les faibles taux d'échantillonnage mesurés pour octocrylène et avobenzène dans le cas des POCIS Nylon indiquent une faible affinité des analytes pour la phase réceptrice.

L'atteinte de l'équilibre en 7 j n'est pas spécifique aux filtres UV puisque le diazépam présente ce même phénomène, également observé pour des POCIS Nylon dans les travaux de Dufour (2013). Ceci est pourtant en désaccord avec les résultats de Belles *et al.* (2013a), qui n'avait pas observé d'équilibre en 18 j d'exposition, dans des conditions similaires de porosité des membranes en Nylon et d'agitation dans le bac mais sans ajout d'antioxydant. L'utilisation de thiosulfate de sodium et la formation du biofilm peuvent avoir joué un rôle, mais sont mal documentés dans la littérature.

2.1.3 Méthodologie de calcul des concentrations équivalentes dans l'eau

a) Compilation des constantes d'élimination

Dans le cas des médicaments, chaque calibration a généré pour une molécule 3 couples taux d'échantillonnage-constante d'élimination en fonction des 3 PRC utilisés. Aussi, l'objectif est de compiler les données de désorption de ces 3 PRC en une valeur unique. Cette démarche est aussi couramment utilisée dans le cas des PRC appliqués aux échantillonneurs passifs pour contaminants hydrophobes, en utilisant jusqu'à 5 PRC pour déduire la concentration équivalente dans l'eau pour chaque contaminant (Booij et Smedes, 2010).

Belles (2012) a constaté un lien de proportionnalité entre les 3 constantes et a introduit une constante d'élimination compilée selon l'équation suivante :

$$k_{e \text{ compilée}} = \frac{k_{e \text{ DIA d5}} + a \times k_{e \text{ caféine 13C}} + b \times k_{e \text{ salbutamol d3}}}{3}$$

Où a et b sont les pentes des droites $k_{e \text{ DIA d5}} = f(k_{e \text{ caféine 13C}})$ et $k_{e \text{ DIA d5}} = f(k_{e \text{ salbutamol d3}})$, respectivement.

La Figure 76 présente les relations entre les PRC pour les 4 calibrations de ces travaux. Les dissipations mesurées dans les POCIS Nylon de la calibration filtres UV n'ont pas été considérées. Les constantes d'élimination ont été calculées pour chaque POCIS individuellement (n=76).

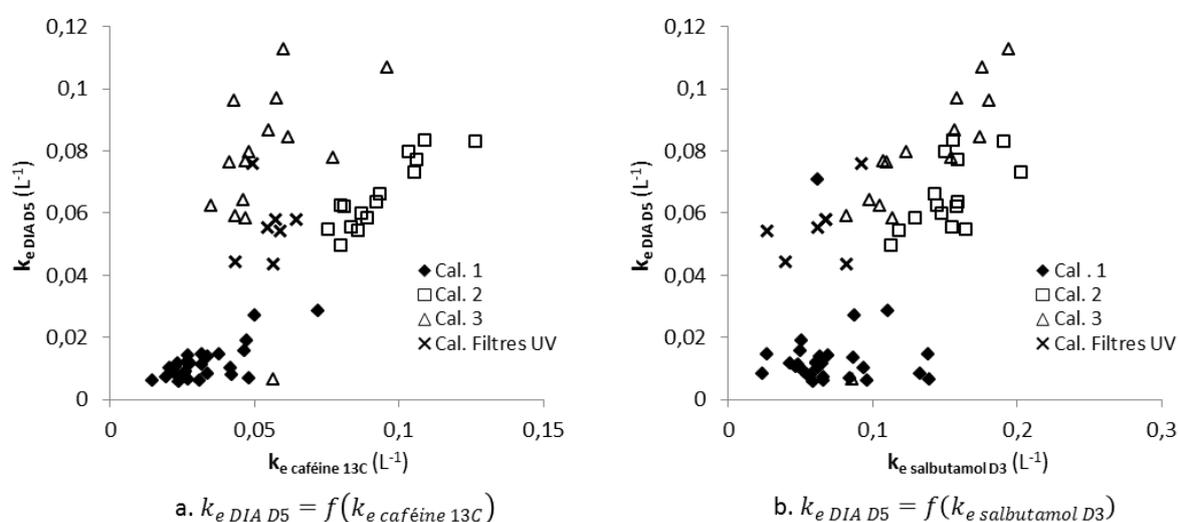


Figure 76. Relation entre $k_{e \text{ DIA d5}}$ et $k_{e \text{ caféine 13C}}$ (a) et $k_{e \text{ DIA d5}}$ et $k_{e \text{ salbutamol d3}}$ (b). Les constantes d'élimination ont été calculées individuellement pour chaque POCIS des calibrations 1, 2, 3 et filtres UV (POCIS PES) (n=76).

La régression linéaire donne les coefficients présentés dans le Tableau 46. Les coefficients calculés sont en accord avec ceux déterminés par Belles (2012), aux écarts-types près.

Tableau 46. Valeurs des coefficients a et b de la constante d'élimination compilée et comparaison aux données des travaux de Belles (2012).

	a	b
Compilation des calibrations	0,77 ± 0,06	0,39 ± 0,03
Coefficient de détermination	0,72	0,75
Données bibliographiques (Belles, 2012)	0,85 ± 0,07	0,47 ± 0,12

Cette approche par constante d'élimination moyenne a permis de limiter les variabilités propres à chaque PRC. En effet, un écart-type relatif supérieur à 65 % est par exemple mesuré lors de la

détermination de la constante d'élimination individuelle du salbutamol d3 sur les triplicats du point 8 j de la calibration 1 (Figure 74), alors que pour ce même point, l'écart-type relatif descend à 45 % avec la constante d'élimination compilée. Cette pondération est d'autant plus nécessaire que lors de suivis environnementaux, les POCIS ne sont généralement pas analysés en triplicat, comme le suivi de l'estuaire, réalisé par POCIS unique.

b) Compilation des taux d'échantillonnage

Certaines molécules ayant été calibrées 3 fois, l'objectif est de déterminer un taux d'échantillonnage moyen sur l'ensemble des calibrations réalisées. Néanmoins, il a été vu en section 2.1.1 de ce chapitre ainsi que dans la littérature (Alvarez *et al.*, 2007) que les taux d'échantillonnage bruts pouvaient varier entre deux calibrations, en particulier en fonction du design expérimental. D'après l'équation de correction de la théorie des PRC ($R_S^{in situ} = R_S^{labo} \cdot \frac{k_e^{in situ}}{k_e^{labo}}$), le rapport taux d'échantillonnage sur constante d'élimination est théoriquement constant : ce rapport a donc été calculé pour l'ensemble des analytes (Tableau 47). Dans le cas des molécules n'ayant pas fait l'objet de calibrations dans ces travaux, les taux d'échantillonnage et les constantes d'élimination des 3 calibrations menées dans des conditions similaires aux travaux de Belles (2012) ont été utilisés ; ces données sont synthétisées dans le Tableau 48. Sur les 53 analytes du protocole multi-résidus médicaments, 44 ont été calibrés et ont montré une accumulation linéaire, leur permettant d'être quantifiés dans le milieu.

Tableau 47. Taux d'échantillonnage moyen et rapport taux d'échantillonnage sur constante d'élimination moyen pour l'ensemble des analytes. Le nombre de calibrations existant par analyte est donné dans la colonne n=. NC : non calculable (molécule atteignant l'équilibre).

analyte	R_S L.j ⁻¹	$\left(\frac{R_S}{k_e}\right)^{labo}$	n=	analyte	R_S L.j ⁻¹	$\left(\frac{R_S}{k_e}\right)^{labo}$	n=
abacavir	0,39	6,4	1	pravastatine	0,37	5,8	1
indinavir	-	-	-	atorvastatine	0,04	1,9	1
lamivudine	NC	NC	-	atéolol	0,22	3,6	1
nelfinavir	0,20 ± 0,21	4,3 ± 2	2	bisoprolol	0,19 ± 0,06	5,8 ± 2,9	2
névirapine	0,47	7,7	1	métoprolol	0,2	3,3	1
ritonavir	0,55	9	1	propranolol	0,43	7	1
saquinavir	0,36 ± 0,37	7,8 ± 3,4	2	sotalol	0,15 ± 0,14	3,3 ± 1,1	2
zidovudine	0,07	3,7	1	timolol	0,33 ± 0,15	9,5 ± 3,5	2
bromazépam	0,28	4,7	1	acébutolol	0,22 ± 0,16	5,7 ± 0,5	2
nordiazépam	0,30	4,9	1	imipramine	0,27 ± 0,05	8,8 ± 5,5	2
alprazolam	0,29 ± 0,09	9,0 ± 4,5	2	doxépine	0,3 ± 0,21	7,8 ± 0,7	2
diazépam	0,22 ± 0,05	6,9 ± 4	2	amitriptyline	0,25 ± 0,09	8,8 ± 6,6	2
oxazépam	0,29 ± 0,09	7 ± 2,8	3	fluoxétine	0,27 ± 0,12	7,7 ± 2,8	2
lorazépam	0,31 ± 0,11	7,2 ± 2,3	3	primidone	0,27 ± 0,13	4,3 ± 2,2	2
clonazépam	0,34 ± 0,13	7,8 ± 2	3	carbamazépine	0,32 ± 0,23	8,3 ± 0,5	2
méprobamate	0,24 ± 0,14	5,1 ± 1,1	3	cétirizine	0,19 ± 0,05	5,8 ± 3,2	2
kétoprofène	f	3	1	ranitidine	0,15 ± 0,06	4,5 ± 2	2
naproxène		3,3	1	clenbuterol	0,33	5,4	1

analyte	R_s L.j ⁻¹	$\left(\frac{R_s}{k_e}\right)^{labo}$	n=	analyte	R_s L.j ⁻¹	$\left(\frac{R_s}{k_e}\right)^{labo}$	n=
diclofénac		1,8	1	caféine	NC	NC	-
ibuprofène		3	1	théophylline	NC	NC	-
hydroxy-ibuprofène	NC	NC	-	sildénafil	0,23	3,8	1
paracétamol	NC	NC	-	losartan	0,27 ± 0,03	10,1 ± 8,4	2
gemfibrozil		4,7	1	salbutamol	0,15	2,5	1
bézafibrate	0,32 ± 0,01	5 ± 0,3	2	clopidogrel	0,31 ± 0,28	7,1 ± 1,8	2
ac. 4-chlorobenzoïque	NC	NC	-	terbutaline	NC	NC	-
acide fénofibrique	0,17	9,1	1	disopyramide	0,28 ± 0,05	4,5 ± 0,9	2
acide clofibrique	NC	NC	-				

Les 4 molécules incluses dans les 3 calibrations (oxazépam, lorazépam, clonazépam, méprobamate) ont présenté des écarts-types relatifs inférieurs à 30 % sur leur rapport $\left(\frac{R_s}{k_e}\right)^{labo}$. Quand seules 2 calibrations ont permis d'établir un rapport $\left(\frac{R_s}{k_e}\right)^{labo}$ moyen, des variations pouvant être élevées ont été observées (diazépam, amitriptyline, losartan). La robustesse de cette approche repose donc sur le nombre de calibrations, en atténuant d'éventuels biais dans la détermination des taux d'échantillonnage.

Tableau 48. Taux d'échantillonnage et constantes d'élimination issus de Belles (2012) pour les molécules non calibrées dans ces travaux. La constante d'élimination compilée est calculée selon la méthodologie préalablement décrite.

	R_s (L.j ⁻¹)			$\left(\frac{R_s}{k_e}\right)^{labo}$ (L)			moyenne
	Cal. a	Cal. b	Cal. c	Cal. a	Cal. b	Cal. c	
kétoprofène	0,21	0,16	0,08	1,44	4,59	3,02	3,0 ± 1,6
naproxène	0,18	0,18	0,09	1,22	5,17	3,40	3,3 ± 2,0
diclofénac	0,08	0,04	0,10	0,53	1,15	3,78	1,8 ± 1,7
ibuprofène	0,22	0,16	0,08	1,51	4,59	3,02	3,0 ± 1,5
gemfibrozil	0,31	0,27	0,11	2,16	7,75	4,16	4,7 ± 2,8
k_e (j⁻¹)	Cal. a	Cal. b	Cal. c				
caféine ¹³ C	0,14	0,05	0,03				
salbutamol d3	0,30	0,06	0,06				
DIA d5	0,21	0,04	0,03				
moyenne	0,14	0,03	0,03				

c) Amélioration des limites de quantification

Les limites de quantification atteintes par les POCIS peuvent être déterminées à partir de la formule de calcul des concentrations équivalentes dans l'eau :

$$LQ = \frac{LQ_{phase} \times M_{phase}}{R_s \cdot t}$$

Où LQ_{phase} est la limite de quantification calculée par extrapolation du rapport signal sur bruit sur des POCIS dopés en $ng.g^{-1}$, M_{phase} la masse de phase dans un POCIS (0,2 g), R_s le taux d'échantillonnage moyen en $L.j^{-1}$ et t la durée d'exposition du POCIS en j.

Les LQ POCIS estimées par cette formule sont données dans le Tableau 49, pour une exposition de 30 j, avec le R_s^{labo} moyen préalablement déterminé. Le facteur d'amélioration est le rapport entre la LQ théorique calculée par extraction SPE d'1 L d'eau et la LQ équivalente déterminée par les POCIS.

Tableau 49. Limites de quantification atteintes par des POCIS exposés 30 j pour le taux d'échantillonnage moyen donné
Tableau 47. Le facteur d'amélioration est le rapport entre la LQ eau théorique (absence de pertes dues aux étapes préparatives) pour l'extraction d'1 L d'eau et la LQ eau équivalente, déterminée à partir des POCIS.

Analyte	LQ POCIS $ng.g^{-1}$ phase	LQ eau équivalente $ng.L^{-1}$	facteur d'amélioration
abacavir	0,3 ± 0,2	0,005 ± 0,004	10
indinavir	0,7 ± 0,3	-	-
lamivudine	0,9 ± 0,9	-	-
nelfinavir	0,2 ± 0,1	0,006 ± 0,004	4
névirapine	0,3 ± 0,3	0,005 ± 0,004	17
ritonavir	0,7 ± 0,2	0,008 ± 0,002	14
saquinavir	0,2 ± 0	0,004 ± 0,001	10
zidovudine	1,5 ± 1,2	0,121 ± 0,121	9
bromazépam	3,5 ± 1,6	0,08 ± 0,04	4
nordiazépam	1,2 ± 0,6	0,03 ± 0,01	3
alprazolam	3,7 ± 1,1	0,09 ± 0,03	1
diazépam	0,8 ± 0,5	0,03 ± 0,01	5
oxazépam	0,7 ± 0,4	0,02 ± 0,01	16
lorazépam	1,2 ± 1,6	0,03 ± 0,03	13
clonazépam	1,1 ± 0,8	0,02 ± 0,02	7
méprobamate	2,4 ± 1	0,07 ± 0,03	2
kétoprofène	4,7 ± 4	0,2 ± 0,2	4
naproxène	0,5 ± 0,6	0,02 ± 0,02	3
diclofénac	1,5 ± 1,1	0,1 ± 0,1	3
ibuprofène	11,8 ± 4,2	0,4 ± 0,3	3
hydroxy-ibuprofène	10,7 ± 4,6	-	-
paracétamol	6,2 ± 3	-	-
gemfibrozil	0,6 ± 0,7	0,02 ± 0,02	3
bézafibrate	0,7 ± 0,5	0,01 ± 0,01	14
ac. 4-chlorobenzoïque	7,5 ± 8,9	-	-
acide fénofibrique	0,1 ± 0,2	0,005 ± 0,007	9
acide clofibrique	0,6 ± 0,5	-	-
pravastatine	4,6 ± 5,1	0,07 ± 0,09	4
atorvastatine	1,1 ± 2,1	0,1 ± 0,3	4
aténolol	7,7 ± 2	0,2 ± 0,1	2
bisoprolol	0,1 ± 0,1	0,004 ± 0,003	17
métoprolol	0,6 ± 0,7	0,02 ± 0,02	7
propranolol	0,4 ± 0,2	0,006 ± 0,003	14
sotalol	3,6 ± 1,9	0,2 ± 0,1	3

Analyte	LQ POCIS ng.g ⁻¹ phase	LQ eau équivalente ng.L ⁻¹	facteur d'amélioration
timolol	0,2 ± 0,1	0,004 ± 0,002	10
acébutolol	0,1 ± 0	0,003 ± 0,001	14
imipramine	0,5 ± 0,3	0,01 ± 0,01	3
doxépine	0,5 ± 0,4	0,01 ± 0,01	13
amitriptyline	0,5 ± 0,4	0,01 ± 0,01	4
fluoxétine	0,3 ± 0,1	0,009 ± 0,004	6
primidone	1,1 ± 0,4	0,03 ± 0,01	25
carbamazépine	1,1 ± 0,5	0,02 ± 0,01	6
cétirizine	0,3 ± 0,4	0,01 ± 0,01	12
ranitidine	0,5 ± 0,4	0,02 ± 0,02	3
clenbuterol	0,4 ± 0,1	0,008 ± 0,002	10
caféine	4,3 ± 2,9	0,08 ± 0,05	-
théophylline	2,3 ± 1,4	0,05 ± 0,03	-
sildénafil	0,3 ± 0,1	0,01 ± 0,004	9
losartan	0,1 ± 0	0,003 ± 0,001	8
salbutamol	1,9 ± 1	0,08 ± 0,05	1
clopidogrel	0,5 ± 0,3	0,01 ± 0,01	7
terbutaline	4,6 ± 7,8	0,2 ± 0,3	-
disopyramide	0,1 ± 0	0,003 ± 0,001	12
caféine ¹³ C	7,1 ± 2,7	-	
salbutamol d3	1,7 ± 0,9	-	
DIA d5	8 ± 3,8	-	
isoproturon d6	4,8 ± 2,9	-	

Les limites de quantification ainsi obtenues sont de l'ordre du dixième, voire du centième de nanogramme par litre et offrent une amélioration jusqu'à un facteur 25 des limites de quantification analytiques par extraction d'1 L d'eau. En réalité, compte tenu des volumes de fuite observés lors de la percolation sur la cartouche en SPE, l'extraction d'un tel volume est sujette à une non-rétention totale des analytes et il est vraisemblable que le facteur d'amélioration soit encore supérieur. En outre, Belles (2012) a indiqué que les membranes des POCIS jouent un rôle de nettoyage de la matrice en réduisant le bruit de fond mais que la pré-concentration d'interférents peut avoir un effet inverse. Ainsi, les limites de quantification présentées ici restent théoriques et sont susceptibles d'être plus faibles en pratique (Vrana *et al.*, 2005).

d) Synthèse sur la méthode de calcul pour les applications environnementales

Dans un premier temps, la constante d'élimination compilée à partir des 3 PRC est calculée pour chaque échantillonneur, à condition que la dissipation de ceux-ci soit supérieure à 10 %, comme recommandé par Booij et Smedes (2010). De plus, lorsque le salbutamol d3 est trop dissipé, la constante d'élimination compilée est restreinte à la moyenne calculée *via* la DIA d5 et la caféine ¹³C. Lorsque la caféine ¹³C est également trop dissipée, seule la constante d'élimination de la DIA d5 a été utilisée. Sur les 117 POCIS environnementaux exposés en Gironde, seuls 4 POCIS ont moins de 10 % de DIA d5 restant après exposition. Les concentrations équivalentes dans l'eau sont tout de même

calculées sur la DIA d5 mais le dépassement du seuil de 10 % est alors identifié (cf. section 2.4.3 de ce chapitre).

Une fois la constante d'élimination compilée déterminée, la concentration équivalente dans l'eau peut être calculée à partir de l'équation suivante et des $\left(\frac{R_s}{k_e}\right)^{labo}$ donnés dans le Tableau 47.

$$C_{eau} = \frac{C_{POCIS} \cdot M_{POCIS}}{\left(\frac{R_s}{k_e}\right)^{labo} \cdot k_e^{in\ situ} \cdot t}$$

2.2 Validation *in-situ*

Il s'agit de vérifier l'adéquation entre les concentrations moyennes données par les POCIS et les concentrations mesurées par prélèvement ponctuel. Pour cela, 4 jeux de POCIS en triplicats ont été exposés sur une durée de 5, 10, 18 et 28 j au point de prélèvement de Cadaujac (Gironde), de l'eau étant prélevée quotidiennement sur toute la durée de l'expérience (du 18/11/11 au 15/12/11).

La première étape a consisté à évaluer la quantité de PRC restant dans les échantillonneurs au cours du temps (Tableau 50). Le salbutamol d3 a présenté la désorption la plus rapide, suivi par la caféine ^{13}C et la DIA d5. Les 4 jeux de triplicats ont montré de bonnes répétabilités avec un écart-type relatif inférieur à 10 % pour la caféine ^{13}C et la DIA d5 et de l'ordre de 30 % pour le salbutamol d3.

Tableau 50. Pourcentage de PRC restant au cours du temps (%).

PRC	durée d'exposition (j)			
	5	10	18	28
caféine ^{13}C restant (%)	87 ± 4	68 ± 2	64 ± 3	53 ± 3
salbutamol d3 restant (%)	48 ± 8	35 ± 9	29 ± 10	17 ± 3
DIA d5 restant (%)	96 ± 2	84 ± 8	81 ± 2	79 ± 5

L'examen des constantes d'élimination (Tableau 51) indique une cinétique de désorption relativement lente, équivalente à celle observée dans la calibration la plus lente, la n°1. Des valeurs comparables ($0,022 \pm 0,001 \text{ j}^{-1}$) ont été obtenues lors d'expositions sur un ruisseau affluent de la Charente, France, par Mazzella *et al.* (2010).

Tableau 51. Constantes d'élimination mesurées *in-situ* lors de la campagne de validation des POCIS.

PRC	Constante d'élimination			
	<i>in-situ</i>	Cal 1	Cal 2	Cal 3
caféine ^{13}C	0,02	0,03	0,09	0,06
salbutamol d3	0,07	0,06	0,14	0,16
DIA d5	0,01	0,01	0,06	0,08

Les concentrations équivalentes dans l'eau ont ensuite été calculées pour les 12 POCIS. La Figure 77 présente les écarts-types relatifs déterminés par jeu de 3 POCIS pour les 26 molécules détectées dans les POCIS et pour lesquelles un taux d'échantillonnage a été mesurable (cf. section 2.1.1 de ce

chapitre). La variabilité par triplicat a été faible, généralement inférieure à 20 %, et décroissante pour des durées d'exposition plus longues à mesure que les quantités d'analyte séquestrées ont augmenté et se sont éloignées des limites de quantification. Cette faible variabilité ainsi que la faible variabilité des pourcentage de PRC restant après exposition font de l'échantillonnage passif par POCIS, combiné à la méthodologie établie, une technique fidèle.

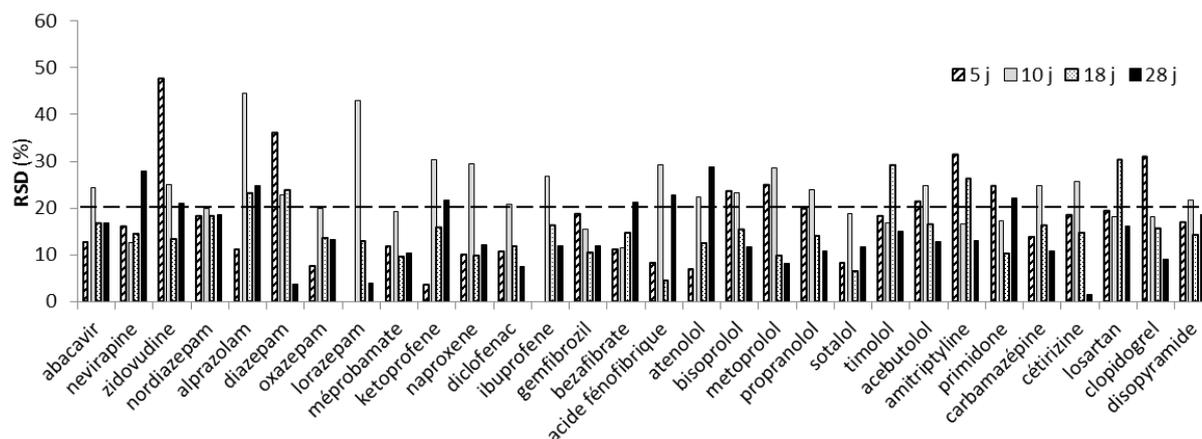


Figure 77. Ecarts-types relatifs sur les concentrations équivalentes dans l'eau, mesurés par jeu de triplicat pour les molécules détectées dans les POCIS. n=3.

En termes de détection, 27 molécules ont été détectées par échantillonnage passif quand 20 l'ont été par prélèvement ponctuel. L'amélioration du nombre de molécules détectées sera étudiée dans le détail pour l'application à l'estuaire de la Gironde chapitre 4.3, section 3.2.1. La comparaison des concentrations équivalentes issues des POCIS aux concentrations mesurées quotidiennement dans l'eau est donnée pour une sélection de 6 analytes Figure 78 et pour les autres molécules détectées dans les eaux et les POCIS en Annexe 12. Les concentrations mesurées dans l'eau par prélèvement ponctuel ont montré une tendance croissante pour tous les composés, tendance également observée sur les POCIS exposés pour des durées croissantes. La concordance des concentrations entre les deux méthodes d'échantillonnage dépend de chaque composé : 1) bon accord pour carbamazépine, acide fénofibrique, bézafibrate ; 2) sous-estimation du POCIS dans le cas de lorazépam ; et 3) surestimation pour sotalol et ibuprofène. Le rapport moyen entre concentration mesurée par prélèvement ponctuel et concentration équivalente mesurée par échantillonnage passif est donné pour l'ensemble des molécules détectées par les deux méthodes Figure 79.

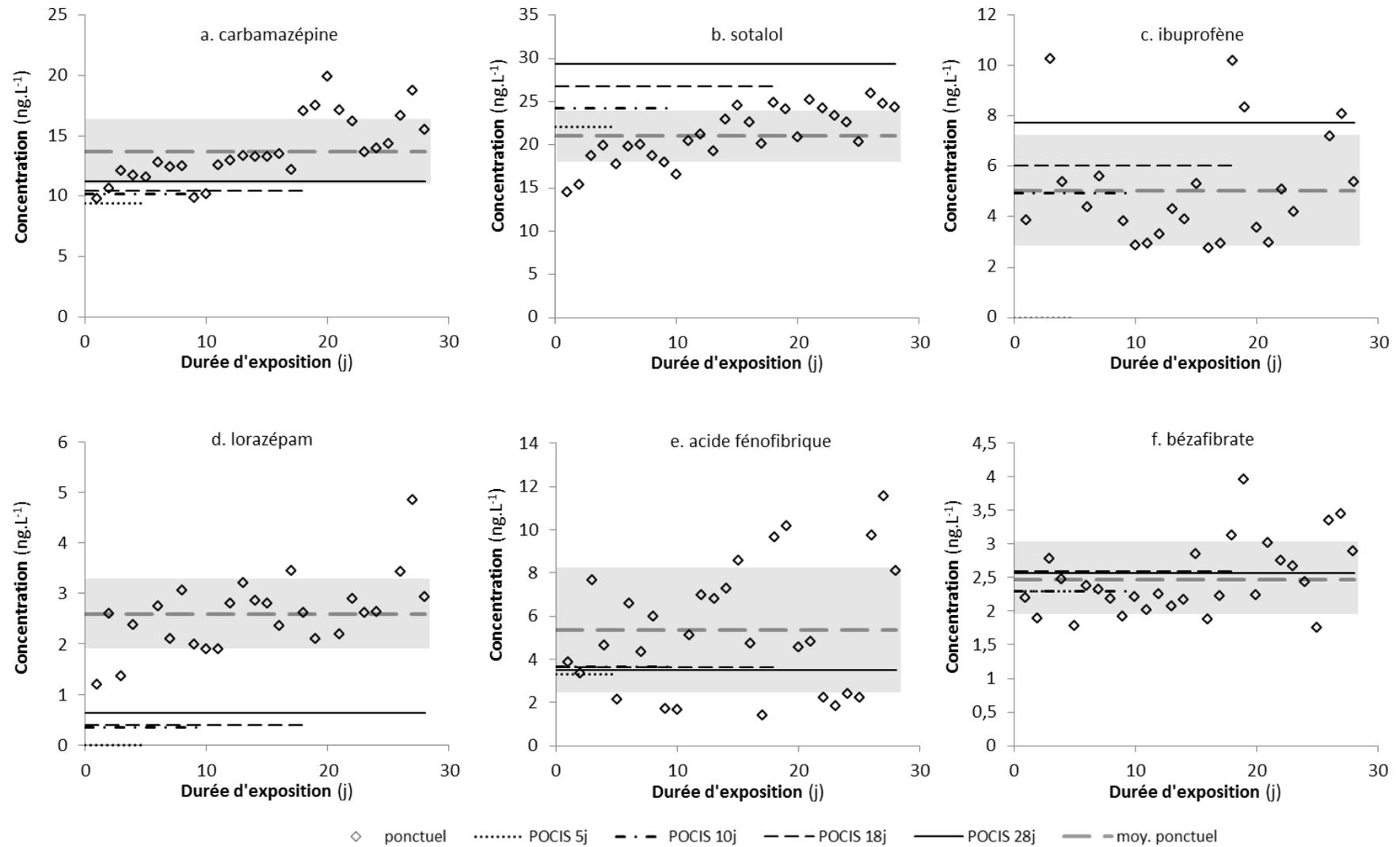


Figure 78. Comparaison des concentrations mesurées par prélèvement ponctuel et des concentrations calculées par les POCIS. Noter la non détection d'ibuprofène et lorazépam pour une durée d'exposition de 5 j. La zone grisée correspond à un intervalle de 2 écarts-types des mesures ponctuelles sur 28 j.

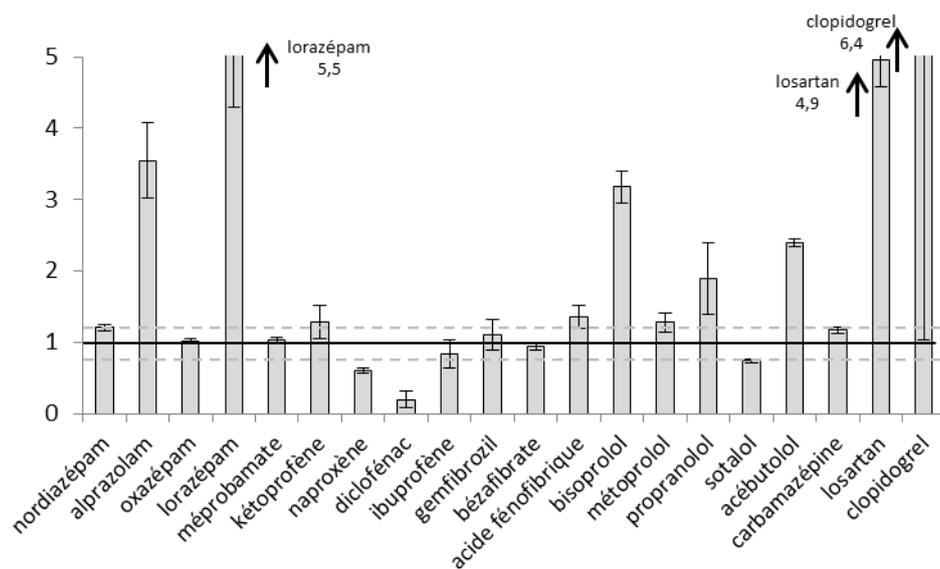


Figure 79. Rapport des concentrations mesurées par prélèvement ponctuel aux concentrations mesurées par échantillonnage passif. Les rapports ont été calculés pour les mêmes périodes (5, 10, 18 et 28 j) puis moyennés. n=4 sauf lorazépam et ibuprofène où n=3.

Sur les 20 molécules détectées par les 2 méthodes (POCIS et ponctuel), 10 ont présenté un excellent accord mesure ponctuelle–mesure échantillonnage passif, avec un rapport compris entre 0,8 et 1,2 aux écarts-types près. Alprazolam, lorazépam, diclofénac, bisoprolol, acébutolol losartan et clopidogrel ont différencié de plus d’un facteur 2 en excès ou en défaut. Dans le cas de clopidogrel, l’évolution du facteur de concentration, c’est-à-dire le rapport de la concentration dans l’échantillonneur sur la concentration dans l’eau, est donné Figure 80. Un profil à temps de latence a été observé, conformément aux cinétiques déjà observées en laboratoire (Tableau 75.d). Ainsi, le rapport moyen présenté sur la Figure 79 masque une évolution de sa valeur : d’abord élevé, le rapport diminue à mesure que l’accumulation dans l’échantillonneur est devenue linéaire donc intégrative pour cette molécule.

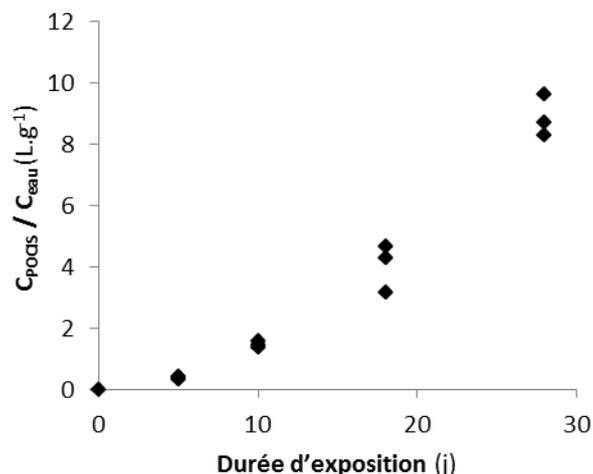


Figure 80. Facteur de concentration pour clopidogrel dans l’expérience de validation *in-situ*.

Dans le cas du diclofénac, les différences de concentration observées sont expliquées par l'atteinte d'un équilibre dans l'échantillonneur, comme le montre son facteur de concentration (Figure 81.a). Cet équilibre n'a pas été observé dans les calibrations de référence (Belles, 2012) et n'était pas prévisible par la cinétique relativement lente observée. Par ailleurs, les prélèvements ponctuels indiquent une concentration élevée sur 3 échantillons d'eau à 11, 12 et 13 j (Figure 81.b). La différence de comportement entre le laboratoire et le terrain ainsi que la forte variabilité des concentrations en diclofénac mesurées par prélèvement ponctuel restent inexpliquées et doivent être approfondies.

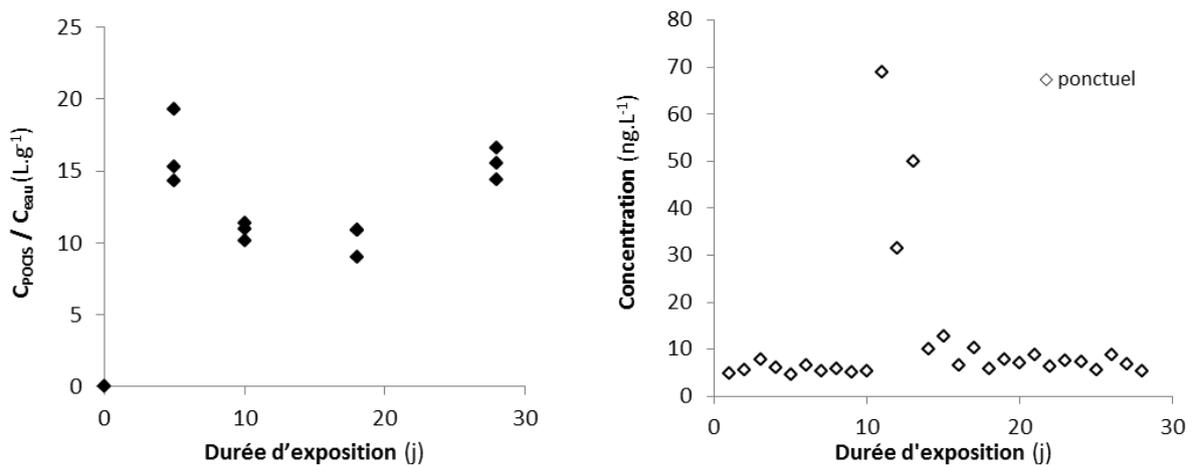


Figure 81. Facteur de concentration du diclofénac dans l'expérience de validation *in-situ* (a) et évolution des concentrations mesurées dans la phase dissoute par prélèvement ponctuel (b).

Enfin, la taille des pores des membranes en PES est de $0,1 \mu m$ tandis que le seuil de coupure des filtres GF/F utilisés pour les prélèvements ponctuels est de $0,7 \mu m$. Il peut être envisagé qu'une certaine proportion de molécules associées à la matière organique dissoute, à de fines particules ou à des colloïdes, ne soit pas échantillonnée par les POCIS mais le soit par SPE précédée d'une filtration sur filtres GF/F. Duan *et al.* (2013) ont en effet montré que la phase colloïdale en eaux de rivière pouvait porter de 8 à 36 % de la concentration totale (phases dissoute, particulaire et colloïdale) en kétoprofène, naproxène, acide clofibrique, diclofénac et ibuprofène. Cette proportion pourrait être plus élevée et renforcer le rôle de la phase colloïdale dans le cas des médicaments les plus hydrophobes, étudiés dans le chapitre 4.2, section 2.2. Les analytes les plus hydrophobes (fluoxétine, ritonavir, amitriptyline, imipramine, sildénafil) n'ayant pas été détectés par prélèvement ponctuel et par échantillonnage passif, la vérification de cette hypothèse est délicate. Les β -bloquants acébutolol, propranolol et bisoprolol présentant une affinité pour la phase particulaire, et donc potentiellement pour la phase colloïdale, sont quantifiés à des concentrations 2 à 3 fois supérieures par prélèvement ponctuel d'eau que par POCIS, ce qui pourrait valider l'hypothèse précédente. L'influence de la matière organique dissoute (MOD) sur les taux d'échantillonnage est encore peu renseignée dans la littérature, Li *et al.* (2011) n'ont pas observé d'effet de la MOD sur l'échantillonnage de pesticides et de médicaments tandis que Haitzer *et al.* (1999) et Gourlay *et al.* (2003) ont observé la formation de complexes entre la MOD et les hydrocarbures aromatiques polycycliques étudiés, modifiant la partition entre phases dissoute, particulaire et colloïdale et donc la biodisponibilité des molécules.

2.3 Application de l'outil à la Jalle de Blanquefort

Dans le cadre de ces travaux, 3 points de la Jalle de Blanquefort ont été échantillonnés par des POCIS en triplicats du 12/12/11 au 12/01/12. Les performances de l'outil sont traitées dans cette partie, l'étude appliquée des concentrations mesurées par POCIS sera effectuée dans le chapitre 4.2, section 2.1.1.

Les pourcentages de PRC restant par point échantillonné (Tableau 52) sont dans une gamme satisfaisante (20-80 %), les valeurs étant plus faibles, donc les dissipations plus élevées, au point 1 km. Ce résultat est attribué à un phénomène hydrodynamique puisque la cage de ce jeu de POCIS a été posée à l'amont d'une écluse mais a été récupérée en aval de celle-ci, entraînée par le courant dans une zone restreinte à écoulement rapide (illustration Figure 82). A l'amont, les variabilités sont similaires à celles observées dans les triplicats de la validation *in-situ* (cf. section 2.2). A 9 km, l'écart-type relatif est plus élevé, variant de 19 % (DIA d5) à 58 % (salbutamol d3) mais reste acceptable. En revanche, les variabilités avoisinent les 100 % au point 1 km. L'examen détaillé de chaque POCIS de ce triplicat révèle des valeurs anormalement élevées de PRC restant pour un POCIS du triplicat. L'exclusion de cet échantillonneur donne les valeurs de pourcentage de PRC restant de 11 ± 3 % ; 6 ± 3 % et 36 ± 6 % pour caféine ^{13}C , salbutamol d3 et DIA d5, respectivement. Il est vraisemblable qu'à l'intérieur de la cage de protection, les POCIS n'aient pas été soumis au même régime hydrodynamique puisque la cage était posée horizontalement sur le lit de la rivière.

Tableau 52. Pourcentage de PRC restant aux 3 points échantillonnés (la localisation des points est précisée dans le chapitre 2, section 1.3). n=3.

PRC	Point échantillonné		
	Amont	1 km	9 km
caféine ^{13}C restant (%)	50 ± 7	28 ± 29	38 ± 14
salbutamol d3 restant (%)	21 ± 7	9 ± 7	12 ± 7
DIA d5 restant (%)	81 ± 8	56 ± 34	67 ± 13

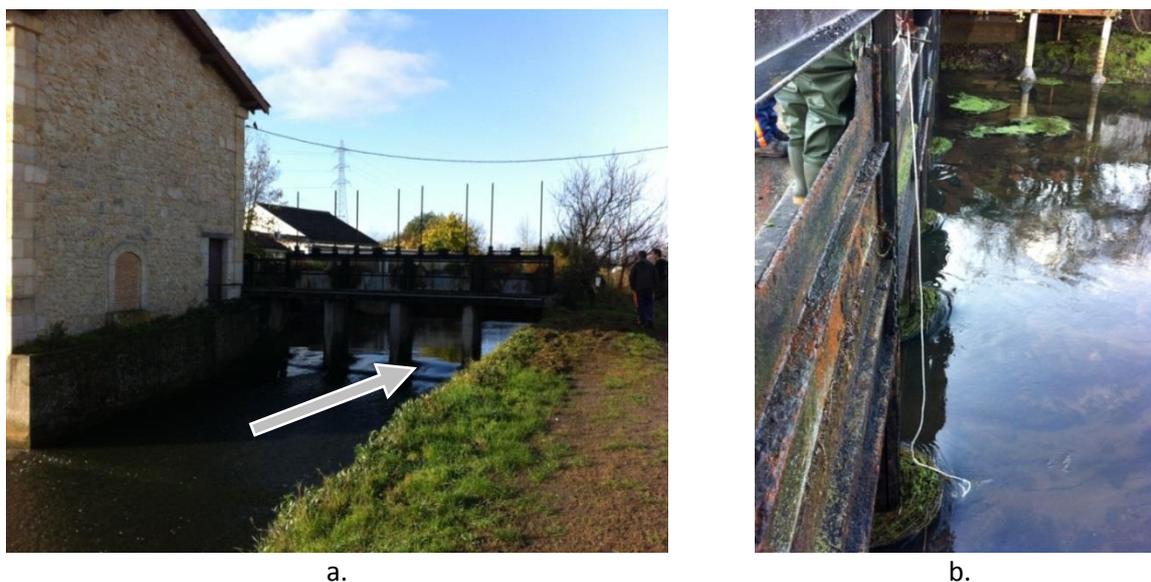


Figure 82. Point 1 km. Photo de l'écluse depuis l'aval (a) et installation initiale de la cage à l'amont de l'écluse (b). La cage a été entraînée dans la zone de forte turbulence indiquée par la flèche blanche.

L'examen des constantes d'élimination (Tableau 53) indique une cinétique de désorption relativement lente, équivalente à celle observée dans la validation *in-situ*, et supérieure au point 1 km.

Tableau 53. Constantes d'élimination mesurées dans la Jalle de Blanquefort. Le POCIS aberrant du triplicat 1 km a été exclu. n=3.

PRC	Constante d'élimination j^{-1}		
	Amont	1 km	9 km
caféine ¹³ C	0,023 ± 0,005	0,071 ± 0,01	0,033 ± 0,014
salbutamol d3	0,051 ± 0,011	0,097 ± 0,021	0,072 ± 0,021
DIA d5	0,007 ± 0,003	0,033 ± 0,005	0,013 ± 0,007

La variabilité des concentrations équivalentes calculées pour deux traceurs, l'oxazépam et la carbamazépine, est donnée dans le Tableau 54. A l'exception du point 1 km, les écarts-types relatifs sont faibles, inférieurs à 25 %. Le POCIS aberrant du triplicat 1 km induit de fortes variabilités ($\approx 50\%$) ; lorsque celui-ci est exclu, l'écart-type relatif diminue à 25 %. Par la suite, ce POCIS est exclu dans le traitement des concentrations équivalentes. Ainsi, il semble que les variabilités soient plus élevées dans le cas d'un écoulement turbulent de faibles dimensions, comme cela a déjà été mis en évidence dans des travaux antérieurs (Li *et al.*, 2010).

Tableau 54. Concentrations équivalentes calculées à partir des triplicats de POCIS. 1 km corrigé : exclusion du POCIS aberrant.

	concentration (ng.L ⁻¹)			
	Amont	1 km	1 km corrigé	9 km
oxazepam	19 ± 3	49 ± 21	60 ± 15	60 ± 6
carbamazépine	11 ± 2	34 ± 17	43 ± 9	40 ± 4

2.4 Application de l'outil à la Gironde

Sur les 20 mois du suivi de la Gironde par échantillonneurs passifs, 117 POCIS ont été déployés. Les performances de l'outil sont examinées dans cette section, l'utilisation des concentrations équivalentes à des fins appliquées à la description de l'hydrosystème étudié sera faite dans le chapitre 4.3, section 3.2.

2.4.1 Cas des désorptions des PRC

Le pourcentage de PRC restant après exposition dans le milieu varie de 3 à 81 % pour la caféine ¹³C, de 0 à 94 % pour le salbutamol d3 et de 6 à 97 % pour la DIA d5. Les valeurs moyennes sont respectivement de 34, 16 et 49 % et les valeurs minimales et maximales sont obtenues en hiver et en été, respectivement. La saisonnalité sera abordée dans le détail lors de l'étude des constantes d'élimination, dans la section 2.4.2 de ce chapitre.

a) Comparaison des points échantillonnés

L'élimination des PRC a été comparée en fonction du point de l'estuaire échantillonné. La matrice des corrélations obtenue en considérant les 18 couples point de prélèvement-PRC comme variables et les 21 mesures du 22/06/11 au 16/01/13 comme individus est donnée dans le Tableau 55 (test de corrélation linéaire de Pearson).

Tableau 55. Matrice des corrélations (test de Pearson) restreinte à l'étude des points échantillonnés. Les corrélations fortes (supérieures à 0,7) sont matérialisées en gras.

Caféine ¹³ C	Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	Cadaujac	St-Macaire
Pauillac	1,00	0,71	0,70	0,80	0,45	0,45
Libourne	0,71	1,00	0,78	0,72	0,64	0,53
Bordeaux	0,70	0,78	1,00	0,91	0,92	0,88
Bègles	0,80	0,72	0,91	1,00	0,82	0,76
Cadaujac	0,45	0,64	0,92	0,82	1,00	0,85
St-Macaire	0,45	0,53	0,88	0,76	0,85	1,00
DIA d5	Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	Cadaujac	St-Macaire
Pauillac	1,00	0,50	0,56	0,77	0,28	0,38
Libourne	0,50	1,00	0,69	0,64	0,54	0,34
Bordeaux	0,56	0,69	1,00	0,88	0,91	0,79
Bègles	0,77	0,64	0,88	1,00	0,75	0,69
Cadaujac	0,28	0,54	0,91	0,75	1,00	0,78
St-Macaire	0,38	0,34	0,79	0,69	0,78	1,00
Salbutamol d3	Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	Cadaujac	St-Macaire
Pauillac	1,00	0,79	0,93	0,92	0,90	0,74
Libourne	0,79	1,00	0,68	0,67	0,84	0,34
Bordeaux	0,93	0,68	1,00	0,91	0,90	0,75
Bègles	0,92	0,67	0,91	1,00	0,81	0,72
Cadaujac	0,90	0,84	0,90	0,81	1,00	0,56
St-Macaire	0,74	0,34	0,75	0,72	0,56	1,00

Dans le cas de la caféine ¹³C, une corrélation forte est observée entre les points géographiquement proches, en outre Bordeaux et Bègles sont corrélés à tous les points. En ce qui concerne la DIA d5, les corrélations sont globalement moins fortes, Pauillac et Libourne étant peu corrélés entre eux et avec les autres points. Pour ce PRC, les 4 autres points sur la Garonne estuarienne sont fortement corrélés. Il est en revanche difficile de relier les corrélations observées à la proximité des points dans le cas du salbutamol d3.

La caféine ¹³C et la DIA d5 ont donc une dissipation dépendant du point échantillonné, donc probablement des régimes hydrodynamiques, tandis que le salbutamol d3 présente des variations qui en sont indépendantes.

b) Comparaison des PRC

La matrice de corrélation restreinte à la comparaison par PRC est donnée dans le Tableau 56.

Tableau 56. Matrice des corrélations (test de Pearson) restreinte à l'étude des PRC. Les corrélations fortes (supérieures à 0,7) sont identifiées en gras.

Pauillac	Caféine ¹³ C	DIA d5	Salbutamol d3	Libourne	Caféine ¹³ C	DIA d5	Salbutamol d3
Caféine ¹³ C	1,00	0,84	0,56	Caféine ¹³ C	1,00	0,87	0,60
DIA d5	0,84	1,00	0,75	DIA d5	0,87	1,00	0,83
Salbutamol d3	0,56	0,75	1,00	Salbutamol d3	0,60	0,83	1,00
Bordeaux	Caféine ¹³ C	DIA d5	Salbutamol d3	Bègles	Caféine ¹³ C	DIA d5	Salbutamol d3
Caféine ¹³ C	1,00	0,88	0,66	Caféine ¹³ C	1,00	0,88	0,75
DIA d5	0,88	1,00	0,83	DIA d5	0,88	1,00	0,83
Salbutamol d3	0,66	0,83	1,00	Salbutamol d3	0,75	0,83	1,00
Cadaujac	Caféine ¹³ C	DIA d5	Salbutamol d3	St-Macaire	Caféine ¹³ C	DIA d5	Salbutamol d3
Caféine ¹³ C	1,00	0,91	0,71	Caféine ¹³ C	1,00	0,76	0,49
DIA d5	0,91	1,00	0,83	DIA d5	0,76	1,00	0,75
Salbutamol d3	0,71	0,83	1,00	Salbutamol d3	0,49	0,75	1,00

Pour l'ensemble des points, les corrélations entre la DIA d5 et la caféine ¹³C sont fortes. En revanche, le salbutamol d3 est peu corrélé à ces deux PRC. L'analyse en composantes principales du jeu de pourcentage de PRC restant, donnée en Figure 83, fait ressortir ces comportements. Plus de 70 % des variabilités rencontrées sont expliquées au travers de cette analyse statistique. Dans le plan des variables, la caféine ¹³C n'est pas distinguée de la DIA d5, en revanche le salbutamol d3 présente des comportements distincts des autres PRC. A l'exception de Libourne, les points échantillonnés sont confondus. Dans le plan des individus, trois comportements sont observés : les observations faites l'été et l'automne sont décrites en négatif selon l'axe principal, vers les faibles valeurs de PRC restant tandis que les mois d'hiver et de printemps sont décrits par des valeurs plus élevées de PRC restant. Les observations du 10/02/12 et du 08/03/12 correspondent à des campagnes couvrant la vague de froid de février 2012, valeurs minimales de température dans l'estuaire relevées depuis l'installation du réseau Magest en 2005 (≈ 1 °C en février 2012 contre ≈ 6 °C en février 2013). Lors de ces deux campagnes, les PRC ont effectivement très peu désorbé (DIA d5 à 85 ± 9 % de PRC restant tous points échantillonnés confondus). La désorption suit donc une saisonnalité forte et semble fortement conditionnée par la température.

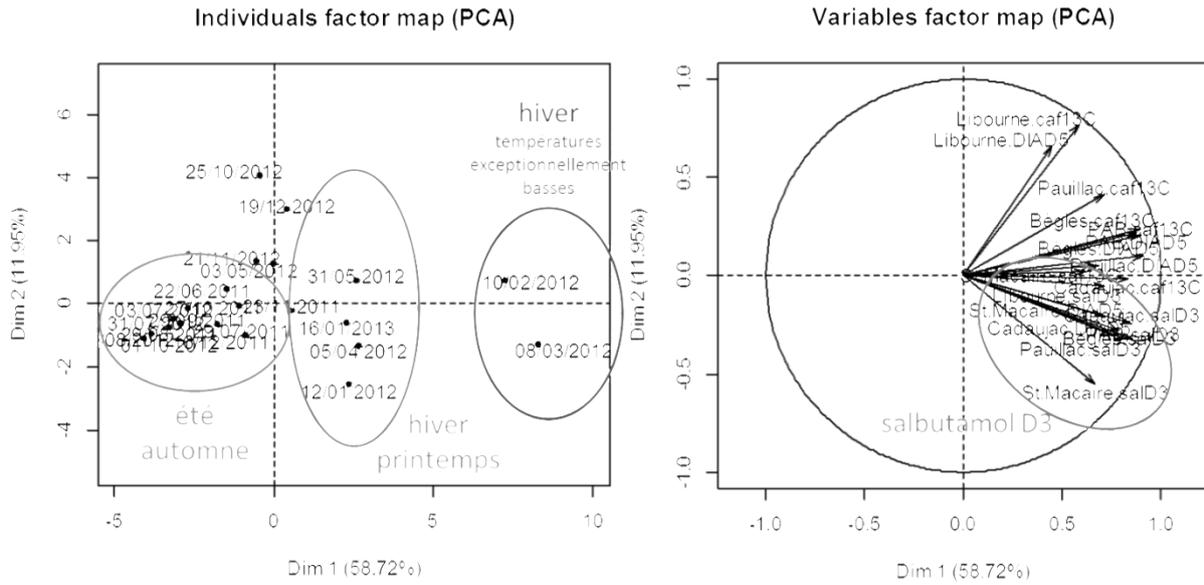


Figure 83. Analyse en composantes principales du jeu de données de pourcentages de PRC restant.

Pour les 3 groupes identifiés sur le plan des individus de l'ACP, le pourcentage moyen de chaque PRC restant et le rapport $\frac{\text{pourcentage de PRC restant hiver grand froid}}{\text{pourcentage de PRC restant saison considérée}}$ par PRC est donné Figure 84.

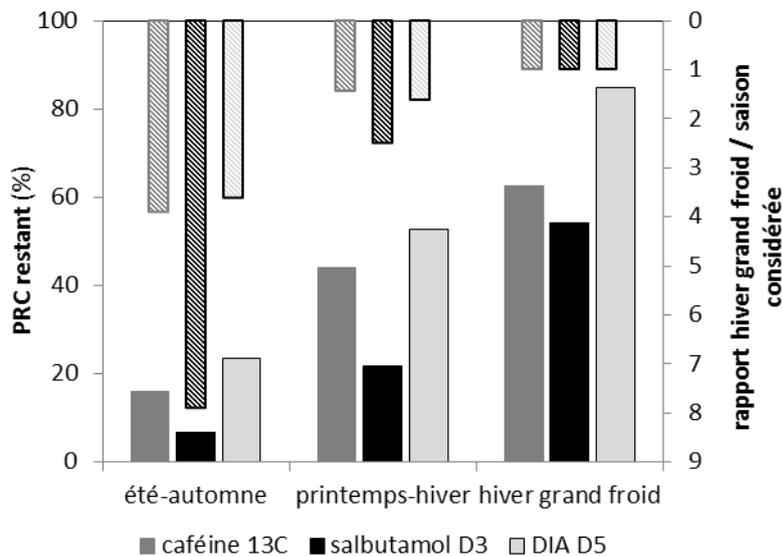


Figure 84. Pourcentage moyen de PRC restant (axe de gauche) et rapport $\frac{\text{pourcentage de PRC restant hiver grand froid}}{\text{pourcentage de PRC restant saison considérée}}$ par PRC (axe de droite), pour chaque groupe identifié dans l'ACP Figure 83.

Avec des pourcentages de PRC restant croissant de l'été-automne vers l'hiver par grand froid, la saisonnalité de l'élimination des PRC est confirmée. L'examen du rapport tracé sur l'axe secondaire indique une différence de comportement entre traceurs : la DIA d5 et la caféine ¹³C sont affectés par la saison de manière identique tandis que le salbutamol d3 est sensiblement plus affecté par les conditions hivernales avec jusqu'à un facteur 8 de différence de vitesse de dissipation contre 4 pour les autres traceurs.

Cette analyse statistique confirme donc la saisonnalité des désorptions des PRC mais aussi la différence de comportement relatif qu'ils présentent.

2.4.2 Cas des constantes d'élimination (k_e)

a) Proportionnalité des constantes d'élimination

Le calcul de la constante d'élimination compilée est basé sur l'hypothèse d'une proportionnalité des constantes d'élimination. Puisqu'il a été montré dans la section précédente que le salbutamol d3 n'était pas proportionnel aux deux autres PRC dans certaines conditions hivernales, l'exactitude de l'hypothèse de calcul doit être vérifiée sur l'ensemble des données. Les relations entre les PRC pour l'ensemble des 117 POCIS exposés en Gironde sont données Figure 85.

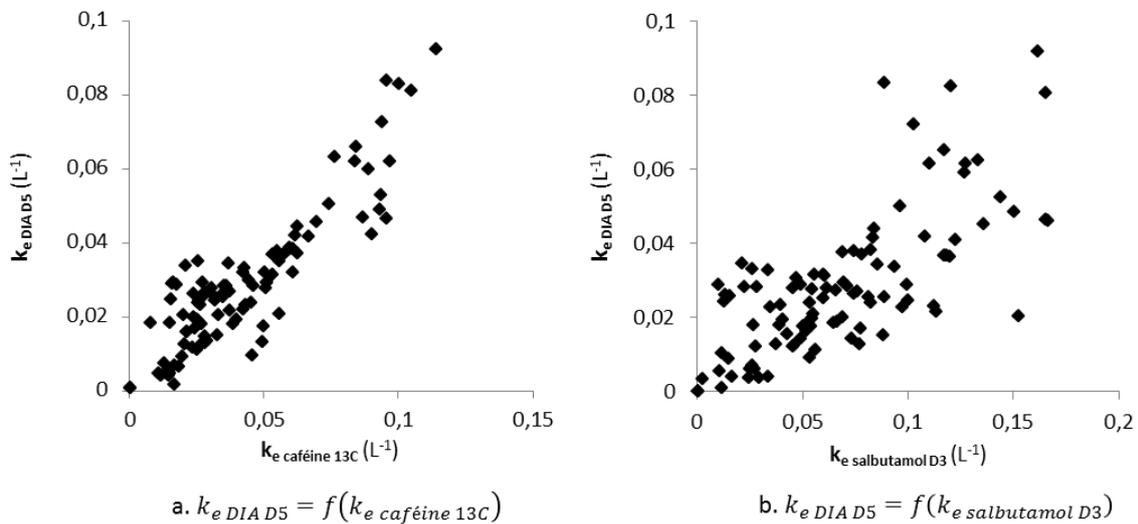


Figure 85. Relation entre k_e DIA d5 et k_e caféine ^{13}C (a) et k_e DIA d5 et k_e salbutamol d3 (b) pour les 117 POCIS exposés en Gironde.

Avec un coefficient de détermination de 0,93 et 0,84 pour les droites $k_{e\text{ DIA d5}} = f(k_{e\text{ caféine } 13\text{C}})$ et $k_{e\text{ DIA d5}} = f(k_{e\text{ salbutamol d3}})$, respectivement, la relation est effectivement linéaire. Le cas de figure des conditions hivernales précédemment évoqué n'affecte pas la tendance globale entre les constantes d'élimination de DIA d5 et salbutamol d3, même si la dispersion est supérieure à celle observée entre DIA d5 et caféine ^{13}C . Les coefficients de proportionnalité entre les PRC déterminés *in-situ* sont peu différents de ceux déterminés en laboratoire (Tableau 57). L'application de la méthode de calcul par constante d'élimination compilée est donc envisageable.

Tableau 57. Valeurs des coefficients a et b de la constante d'élimination compilée en Gironde et en laboratoire. a et b sont les pentes des droites $k_{e\text{ DIA }d5} = f(k_{e\text{ caféine }13C})$ et $k_{e\text{ DIA }d5} = f(k_{e\text{ salbutamol }d3})$, respectivement.

	a	b
Exposition en Gironde	$0,657 \pm 0,017$	$0,391 \pm 0,017$
Calibration en laboratoire	$0,769 \pm 0,055$	$0,386 \pm 0,026$

b) Variation saisonnière

L'étude s'est ici focalisée sur la saisonnalité des constantes d'élimination pour un point donné (Bègles) en raisonnant suivant les PRC individuels et non suivant la constante d'élimination compilée. La Figure 86 présente les constantes d'élimination des 3 PRC à Bègles ainsi que la température de l'eau mesurée à Bordeaux par le réseau de stations automatisées Magest.

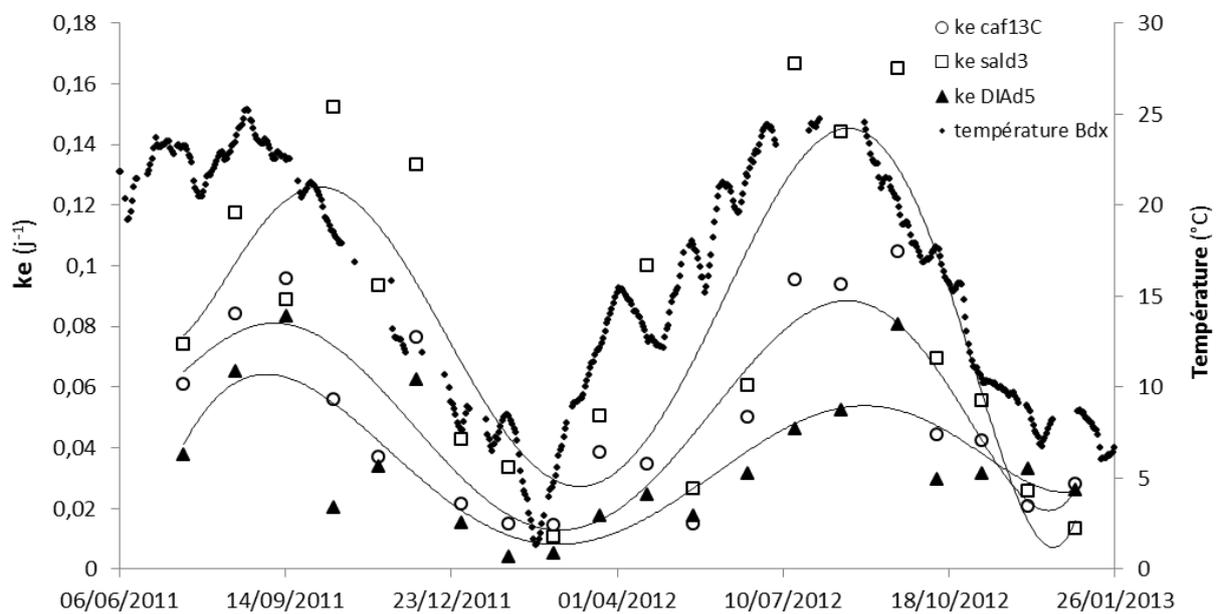


Figure 86. Variation des constantes d'élimination au cours des 21 campagnes d'échantillonnage à Bègles. La tendance (courbe pleine) est donnée à titre indicatif.

La constante d'élimination du salbutamol d3 est la plus élevée, la DIA d5 étant le PRC à la cinétique de désorption la plus lente. La saisonnalité est marquée pour les 3 PRC avec des maximums atteints à la fin de l'été et des minimums en hiver. Les facteurs d'augmentation entre minimum et maximum ne sont pas représentatifs puisque le calcul de la constante d'élimination minimum est entaché d'une incertitude due à la faible quantité de PRC dissipée. Une bonne corrélation est observée entre les tendances des constantes d'élimination et les températures enregistrées dans le milieu. La relation de cause à effet n'est pas prouvée mais elle a déjà été suggérée dans les travaux de Togola et Budzinski (2007), qui mettent en évidence une augmentation des taux d'échantillonnage pour des températures croissantes. Des tendances identiques ont été observées avec des échantillonneurs passifs pour molécules hydrophobes (Booij *et al.*, 2003 ; Vrana *et al.*, 2006). Par ailleurs, ces résultats sont en accord avec les tendances observées sur le même site d'étude par Belles (2012). En se plaçant à Bègles et non à Saint-Macaire pour l'étude de ces variations, on peut conclure que le régime hydrodynamique n'explique pas la tendance saisonnière générale observée. En effet, à

Bègles, les courants de marée, non saisonniers, sont bien supérieurs aux courants imposés par le débit fluvial, et rendent les variations saisonnières du débit négligeables (cf. chapitre 1, section 7.3).

En revanche, la Figure 87, présentant les variations saisonnières de la constante d'élimination du salbutamol d3 à Bègles et à St-Macaire, indique une différence de vitesse de désorption, avec des constantes d'élimination similaires en hiver mais près de deux fois supérieures à Bègles en été et à l'automne. Cette différence entre le point amont et Bègles a également été observée pour les autres PRC et pour les autres points que Bègles.

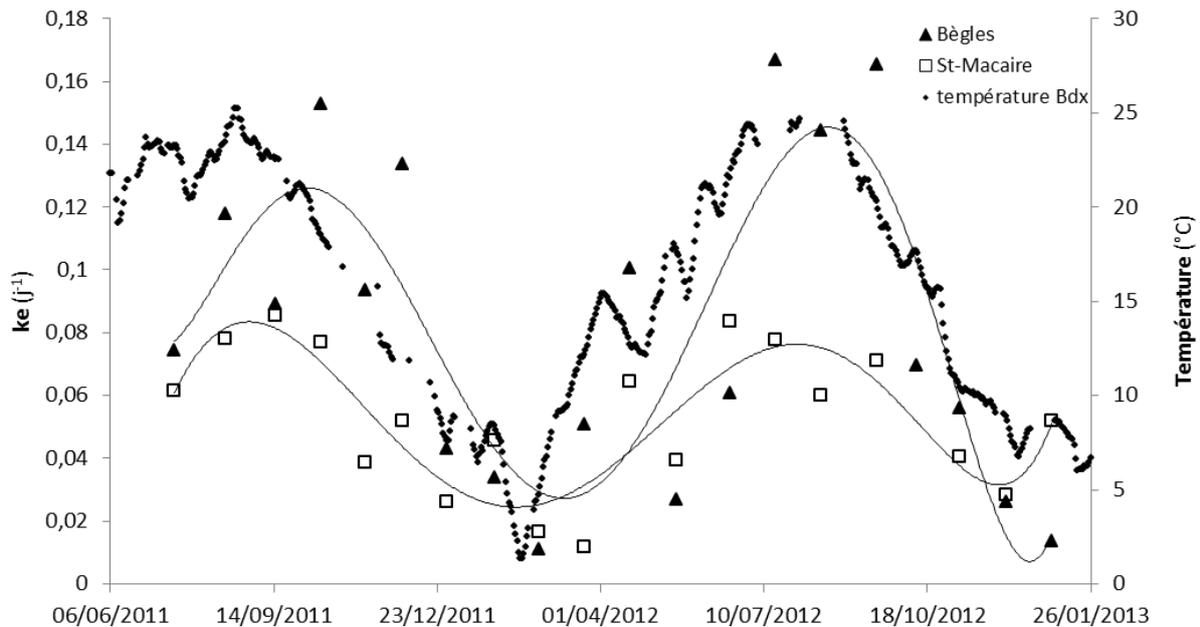


Figure 87. Variations comparées de la constante d'élimination du salbutamol d3 à Saint-Macaire et à Bègles.

Le rapport entre la constante d'élimination mesurée à Bègles et celle mesurée à St-Macaire (Figure 88), varie en anti-corrélation avec les débits de la Garonne, prenant des valeurs de l'ordre de 2,5 et 1, lors des faibles et forts débits, respectivement. Ainsi, la dissipation a été plus rapide à Bègles qu'à St-Macaire lors des débits d'étiage et équivalente lors des débits de crue. A Bègles, quelle que soit la saison, le régime hydrodynamique est imposé par la marée, avec des débits équivalents pouvant dépasser $5000 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (données générées par simulation à l'aide du logiciel Mike 11, cf. chapitre 4.3, section 3.6.2). En revanche, une variation de régime hydrodynamique est perceptible à St-Macaire, en période d'étiage, lorsque le débit avoisine les $100 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Ces faibles débits d'étiage induisent de plus faibles courants et donc un ralentissement de l'élimination des PRC de la phase réceptrice, expliquant les variations relatives observées entre Bègles et St-Macaire en fonction du débit fluvial. L'influence des conditions hydrodynamiques a également été documentée par Li *et al.* (2010) qui met en évidence pour plusieurs molécules, dont des médicaments, un effet des conditions hydrodynamiques sur les taux d'échantillonnage et donc théoriquement aussi sur les vitesses de dissipation des PRC.

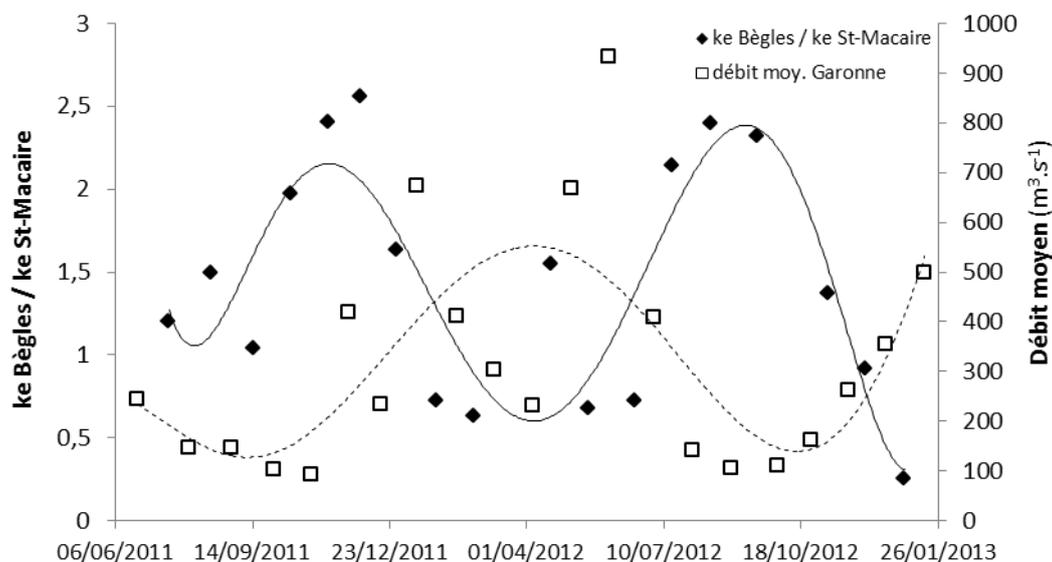


Figure 88. Variation du rapport des constantes d'élimination du salbutamol D3 à Bègles par rapport à Saint-Macaire et débit moyen de la Garonne (à Tonneins) lors de la période d'exposition des échantillonneurs. La tendance (courbe pleine) est donnée à titre indicatif.

Sur l'hypothèse d'une isotropie des échanges PRC-contaminant (base de l'approche PRC ; Mazzella *et al.*, 2010), la variabilité des taux d'échantillonnage est ici approchée, soulignant l'intérêt de l'approche PRC dans un hydrosystème comme celui de la Gironde, à forte variabilité, à la fois temporelle et géographique.

2.4.3 Cas des concentrations équivalentes dans l'eau

Afin d'étudier l'influence de la correction PRC, la comparaison des concentrations calculées avec et sans cette approche pour la carbamazépine à Pauillac est donnée Figure 89. Les concentrations équivalentes dans l'eau ont été calculées par le taux d'échantillonnage déterminé dans la calibration 1 et la correction PRC a été calculée avec la moyenne des 3 PRC, sous les conditions précédemment énoncées du seuil de 10 % de PRC restant.

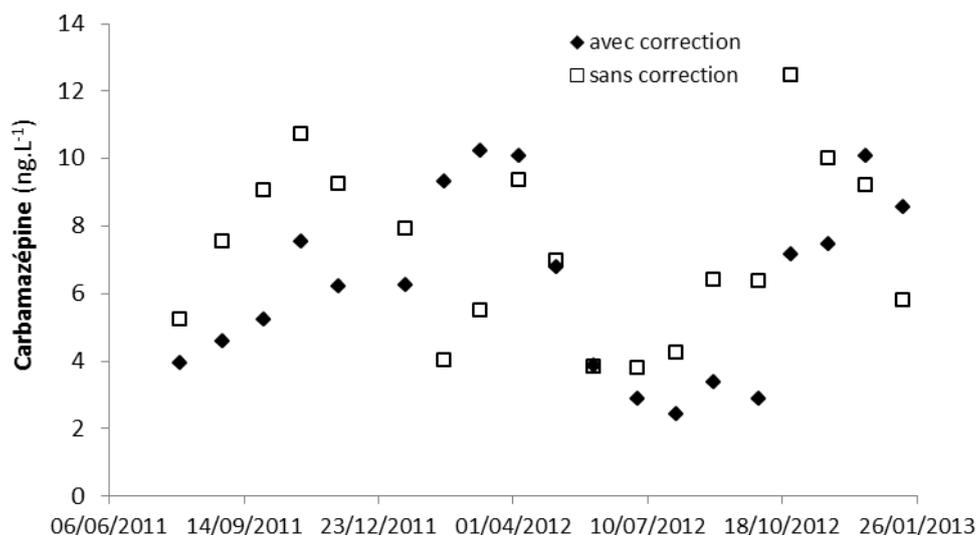


Figure 89. Comparaison des concentrations équivalentes en carbamazépine dans l'eau à Pauillac calculées par taux d'échantillonnage *in-situ* (avec correction) et par taux d'échantillonnage constant (sans correction). Donnée absente le 16/12/11.

Un accord des ordres de grandeur et des tendances globales est observé. En revanche, le rapport entre les concentrations mesurées par les deux méthodes n'est pas constant (Figure 90). En absence de correction, les concentrations mesurées sont supérieures l'été et l'automne, selon la même saisonnalité que celle des constantes d'élimination. Ainsi, la quantité de contaminant séquestrée a augmenté par amélioration des performances accumulatives de l'outil, pouvant générer, dans le cas où aucune correction ne serait appliquée, une interprétation erronée des concentrations effectivement présentes dans le milieu.

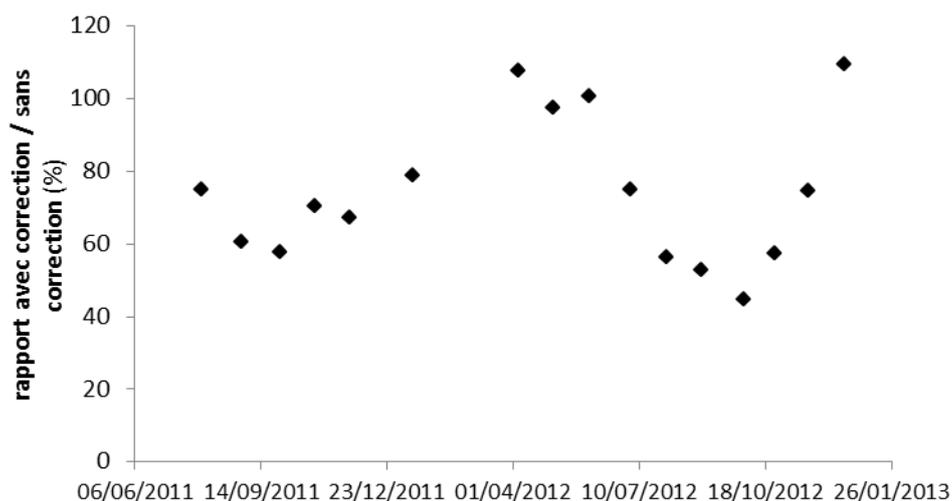


Figure 90. Rapport des concentrations en carbamazépine dans l'eau à Pauillac « avec correction » sur « sans correction » (en pourcentage).

Le choix d'un ou des PRC pour le calcul de la concentration équivalente dans l'eau est déterminant. La Figure 91 présente les concentrations équivalentes calculées à Bègles en fonction du choix du PRC, toujours avec le taux d'échantillonnage déterminé lors de la calibration 1.

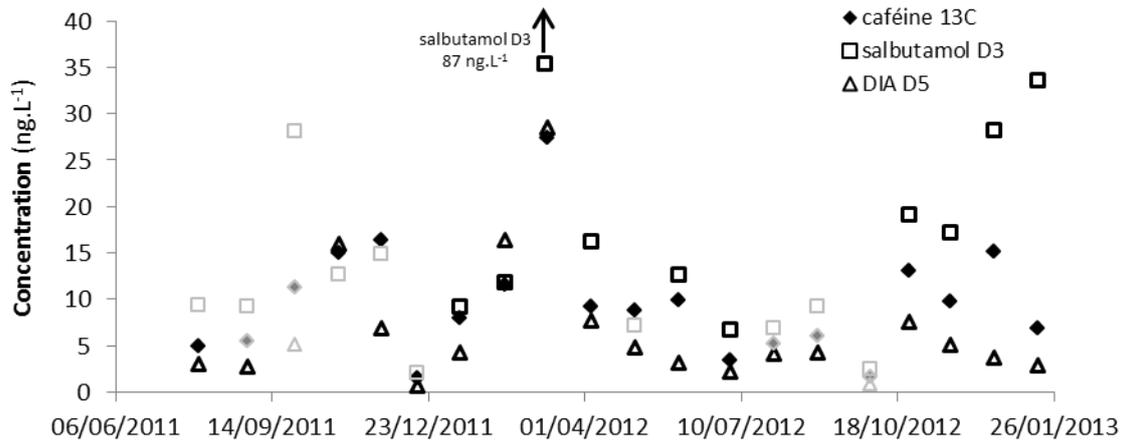


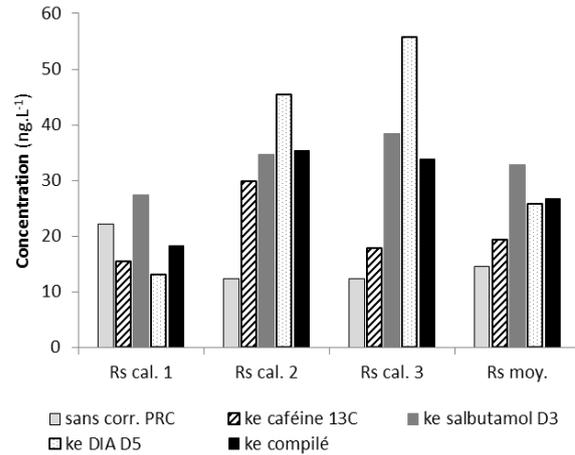
Figure 91. Concentrations en carbamazépine calculées avec les différents PRC à Bègles. Les points clairs indiquent une quantité de PRC restant inférieure à 10 %.

Les ordres de grandeurs et les tendances sont identiques. Sur l'ensemble des campagnes, l'écart-type relatif à la concentration moyenne tous PRC confondus est de 50 %. La caféine ^{13}C et la DIA d5 donnent des concentrations proches, en lien avec les comportements similaires décrits préalablement. La DIA d5 et le salbutamol d3 se différencient le plus aux périodes correspondant aux faibles constantes d'élimination (hiver-printemps). Lorsque la quantité de PRC restant est inférieure à 10 %, les concentrations calculées ne prennent pas des valeurs aberrantes, les points s'incluant dans la tendance générale d'évolution des concentrations. Dans ces conditions, l'usage de la concentration moyenne issue de la compilation de chaque PRC individuel paraît pertinent, en limitant les variations propres à chaque traceur.

2.4.4 Comparaison des méthodes de calcul

La concentration équivalente dans l'eau peut être calculée sans correction PRC à partir des simples taux d'échantillonnage (ici jusqu'à 3 calibrations fournissent différents taux d'échantillonnage), avec correction PRC (3 traceurs permettent des corrections différentes) ou par compilation de l'ensemble de ces données. Afin d'approcher l'influence de la méthode de calcul, la concentration équivalente dans l'eau est déterminée pour une molécule, l'oxazépam, avec le taux d'échantillonnage de chaque calibration, avec chaque PRC, puis de façon compilée par taux d'échantillonnage et par PRC. En outre, la méthode de calcul de référence définie en section 2.1.3 de ce chapitre est appliquée. Les concentrations calculées dans le cas des POCIS exposés à Bègles du 08/03/12 au 05/04/12 sont données Figure 92.

		Choix d'un taux d'échantillonnage			
		R_s	cal. 1	cal. 2	cal. 3
Choix d'une correction	k_e				
	sans corr. PRC	22,2	12,3	12,4	14,5
	caféine ^{13}C	15,5	29,8	17,8	19,5
	salbutamol d3	27,4	34,7	38,4	32,8
	DIA d5	13,1	45,5	55,8	25,8
k_e compilé		18,3	35,4	33,9	26,7



a.

b.

Figure 92. Concentrations moyennes équivalentes ($ng.L^{-1}$) en oxazépam à Bègles du 08/03/12 au 05/04/12, calculées avec et sans correction PRC, selon les différentes valeurs de R_s , de k_e et avec la méthode compilée de référence (valeur en gras), données brutes (a) et représentation graphique (b).

L'examen des différences avec et sans correction PRC a déjà été réalisée (section 2.4.3 de ce chapitre). Selon les taux d'échantillonnage et les constantes d'élimination choisis, des concentrations variant jusqu'à un facteur 4 peuvent être déterminées. Lorsqu'on raisonne en valeurs compilées, ces différences ne sont plus que d'un facteur 2. Dans le cas de molécules dotées d'un unique taux d'échantillonnage, un biais de 100 % est donc possible : des valeurs de 18 et 35 $ng.L^{-1}$ sont par exemple déterminées en fonction de la calibration utilisée (dernière ligne du tableau entre les calibrations 1 et 2). Cependant, les ordres de grandeur sont respectés et la différence reste faible. En prenant les taux d'échantillonnage et constantes d'élimination compilés pour référence, les concentrations s'en éloignent de 31 % quand elles sont calculées par la calibration 1, de 32 % par la calibration 2 et de 27 % par la calibration 3, signifiant qu'aucune calibration ne donne de valeur aberrante.

Pour l'ensemble des 117 POCIS exposés dans l'estuaire, l'écart relatif entre la concentration déterminée par valeur compilée et celles calculées *via* chaque PRC individuellement et sans correction PRC est donné Figure 93.

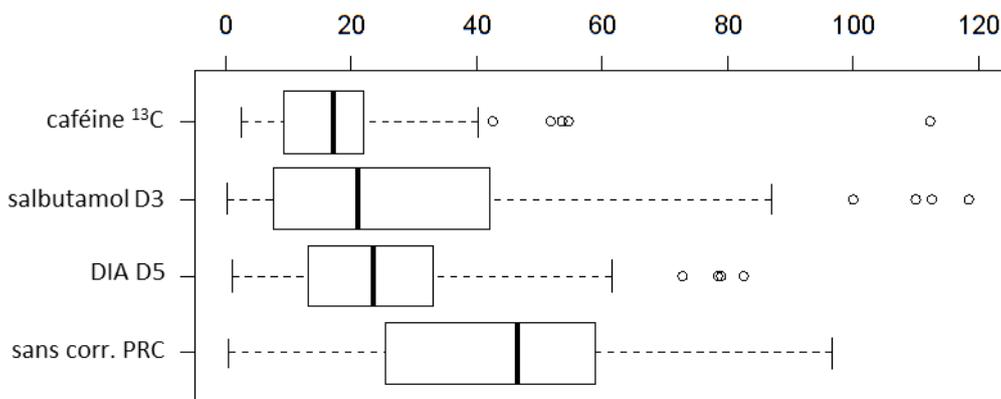


Figure 93. Ecart relatif (%) à la concentration de référence en oxazépam (calculée par valeurs compilées) des concentrations calculées pour chaque PRC individuellement et sans correction PRC. Les taux d'échantillonnage compilés ont été utilisés. n=117

En l'absence de correction PRC, les écarts à la concentration de référence sont élevés (médiane à près de 50 %) et variables puisque la dispersion approche les 100 %. Dans le cas de la caféine ¹³C, du salbutamol d3 et de la DIA d5, il est normal que les écarts-relatifs médians soient proches puisque la concentration de référence est calculée à partir de ces 3 PRC. En revanche, la dispersion observée, en particulier pour le salbutamol d3, indique des écarts à la concentration de référence pouvant dépasser 100 %. L'intérêt d'une constante d'élimination compilée est à nouveau confirmé afin de gommer les variabilités inhérentes à l'usage d'un PRC individuel.

2.5 Conclusions

Les expériences développées dans cette partie ont permis de caractériser le comportement de 46 médicaments lors de leur échantillonnage par POCIS. Un couple taux d'échantillonnage-constante d'élimination a été attribué aux 42 analytes n'atteignant pas l'équilibre en laboratoire ; parmi eux, 8 analytes s'approchent de l'équilibre (abacavir, méprobamate, bézafibrate, aténolol, sotalol, primidone, ranitidine, salbutamol) et 4 montrent une phase de retard à l'adsorption (temps de latence) dans la phase (nelfinavir, ritonavir, saquinavir, clopidogrel). La variabilité entre calibrations peut être forte, jusqu'à un facteur 5 sur les taux d'échantillonnage, l'approche par PRC compensant des différences dues aux cinétiques d'adsorption.

Par ailleurs, les 6 filtres UV ne sont pas adaptés à l'échantillonnage par POCIS à membrane en PES en raison de temps de latence élevés, ce qui traduit une adsorption à la membrane de l'outil. Dans le cas de POCIS à membrane en Nylon de porosité 30 µm, une phase d'accumulation linéaire est observée avant un équilibre atteint rapidement, en 7 j.

L'échantillonnage des médicaments par POCIS a été validé *in-situ*, avec une bonne justesse pour 13 des 20 analytes testés et une faible variabilité (généralement inférieure à 20 %) au sein d'un triplicat d'échantillonneurs passifs. L'application de l'outil en Gironde a montré la saisonnalité des désorptions des PRC et la différence de comportement entre eux, le salbutamol d3 différant de la caféine ¹³C et de la DIA d5. Cette saisonnalité est corrélée à l'évolution des températures de l'eau de l'estuaire mais n'est pas liée aux débits fluviaux en ce qui concerne les tendances globales, bien que l'influence des débits ait été mise en évidence lors de l'étude comparative des points de prélèvement Bègles et Saint-Macaire. L'influence de l'hydrodynamisme a également pu être observée sur le site de la Jalle de Blanquefort, avec des cinétiques accélérées dans des conditions de fort courant.

Enfin, la méthodologie de calcul mise au point a permis d'intégrer les variations des calibrations et de l'échantillonnage *in-situ* en compilant les taux d'échantillonnage et les constantes d'élimination, permettant un bon ajustement des concentrations dans des systèmes à fortes variabilités comme en Gironde.

Chapitre 4 : Résultats environnementaux

Chapitre 4.1 : Caractérisation et étude des variabilités en stations d'épuration

1.1	Etude des eaux d'entrée de STEP.....	221
1.1.1	Occurrence et gamme de concentration	221
1.1.2	Comparaison des apports aux données de consommation	226
1.2	Etude des eaux de sortie de STEP	229
1.2.1	Occurrence et gamme de concentration	229
1.2.2	Comparaison en sortie des filières de traitement.....	234
1.3	Rendements d'épuration.....	236
1.3.1	Méthodologie	237
1.3.2	Rendements moyens par molécule.....	238
1.3.3	Comparaison des STEP CH et LF à traitement équivalent	242
1.3.4	Comparaison des filières de traitement de Louis Fargue.....	242
1.3.5	Comparaison des sorties générales des STEP	243
1.3.6	Etude de la STEP Louis Fargue après réhabilitation	243
1.4	Variabilités des concentrations en STEP	246
1.4.1	Variabilités intra-journalières.....	246
1.4.2	Variabilités inter-journalières.....	250
1.4.3	Variabilités au cours de l'année	252
1.4.4	Variations liées aux précipitations	258
1.5	Etude des filtres UV dans les effluents.....	263
1.5.1	Occurrence et gamme de concentration	263
1.5.2	Variabilité saisonnière	266
1.6	Synthèse sur les apports à la Garonne	268
1.7	Approche complémentaire par analyse non ciblée	270
1.7.1	Etude globale.....	271
1.7.2	Etude moléculaire.....	274
1.8	Conclusions.....	279

1 Caractérisation et étude des variabilités en stations d'épuration

Dans cette partie, les deux principales stations d'épuration de l'agglomération de Bordeaux, Clos de Hilde et Louis Fargue sont étudiées. Les niveaux de contamination des effluents d'entrée et de sortie, leur variabilité et les performances d'épuration des filières d'épuration permettront de qualifier le fonctionnement des stations d'épuration et de dresser le bilan des apports de l'agglomération bordelaise à la Garonne estuarienne.

1.1 Etude des eaux d'entrée de STEP

1.1.1 Occurrence et gamme de concentration

On définit le *taux de détection* comme le pourcentage d'échantillons dans lesquels le composé a été détecté au-dessus des limites de détection.

Les taux de détection sont calculés sur l'ensemble des échantillons de Clos de Hilde et Louis Fargue réunis (Tableau 58). Au total, 33 molécules sont systématiquement détectées dans tous les échantillons, tandis que quatre ne le sont jamais et les 16 autres occasionnellement.

Tableau 58. Taux de détection (%) relevés sur les 65 échantillons d'eau d'entrée de STEP.

Analyte	Taux de détection	Analyte	Taux de détection
abacavir	100	pravastatine	98
indinavir	77	atorvastatine	86
lamivudine	100	atérolol	100
nelfinavir	69	bisoprolol	100
névirapine	100	métoprolol	100
ritonavir	100	propranolol	100
saquinavir	92	sotalol	100
zidovudine	91	timolol	98
bromazépam	98	acébutolol	100
nordiazépam	100	imipramine	62
alprazolam	5	doxépine	0
diazépam	95	amitriptyline	100
oxazépam	100	fluoxétine	100
lorazépam	100	primidone	100
clonazépam	0	carbamazépine	100
méprobamate	100	cétirizine	100
kétoprofène	100	ranitidine	92
naproxène	100	clenbuterol	0
diclofénac	100	caféine	100
ibuprofène	100	théophylline	100
hydroxy-ibuprofène	96	sildénafil	26
paracétamol	100	losartan	100
gemfibrozil	100	salbutamol	100
bézafibrate	100	clopidogrel	100
ac. 4-chlorobenzoïque	78	terbutaline	9
acide fénofibrique	100	disopyramide	100
acide clofibrique	0		

Les valeurs numériques (moyenne, écart-type, 1^{er} et 3^{ème} quartiles) sont données en Annexe 13. L'étendue des concentrations en entrée de la STEP Clos de Hilde va de la LD à plus de 200 µg.L⁻¹ (Figure 94 et Figure 95). Il est intéressant de noter que les eaux résiduaires strictes affichent des concentrations supérieures puisque les Eaux Claires Parasites Permanentes (ECP) entrant dans le réseau les diluent d'un facteur 1,9 à Clos de Hilde et 3,5 à Louis Fargue. Le classement des molécules par gammes de concentration médiane est le suivant (concentrations décroissantes par classe) :

> 1000 ng.L ⁻¹ (14) :	paracétamol, hydroxy-ibuprofène, ibuprofène, caféine, acide fénofibrique, kétoprofène, théophylline, naproxène, sotalol, acébutolol, aténolol, diclofénac, oxazépam, bézafibrate,
100 à 1000 ng.L ⁻¹ (12) :	abacavir, ritonavir, zidovudine, méprobamate, gemfibrozil, pravastatine, bisoprolol, propranolol, carbamazépine, cétirizine, losartan, disopyramide
< 100 ng.L ⁻¹ (22) :	indinavir, lamivudine, nelfinavir, névirapine, saquinavir, bromazépam, nordiazépam, diazépam, lorazépam, acide 4-chlorobenzoïque, atorvastatine, métoprolol, timolol, imipramine, amitriptyline, fluoxétine, primidone, ranitidine, sildénafil, salbutamol, clopidogrel, terbutaline,
Non détectées (5) :	alprazolam, clonazépam, acide clofibrique, doxépine, clenbuterol

Les niveaux de concentration mesurés sont globalement en accord avec ceux relevés dans la littérature. Cependant, dans le détail, des différences existent au sein d'une même classe pouvant traduire des usages de médicaments différents. Dans le cas des antirétroviraux, les concentrations moyennes en abacavir (560 ng.L⁻¹) sont plus élevées dans cette étude que celles relevées par Prasse *et al.* (2010) (225 ng.L⁻¹) quand celles en lamivudine y sont plus faibles (70 ng.L⁻¹ contre 720 ng.L⁻¹). Dans le cas des benzodiazépines, les concentrations moyennes en bromazépam de 15 ng.L⁻¹ dans ces travaux sont très inférieures aux concentrations de 6 effluents d'entrée relevées en Espagne : de 300 à plus de 3000 ng.L⁻¹ (Huerta-Fontela *et al.*, 2010). Le constat est inversé pour l'oxazépam puisque les concentrations des effluents d'entrée de Clos de Hilde et Louis Fargue sont plus de 2 fois supérieures à celles relevées en Angleterre (Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013). Huerta-Fontela *et al.* (2010) ont comparé les concentrations des effluents d'entrée de 6 STEP en Espagne et ont mesuré des concentrations en oxazépam comprises entre 21 et plus de 1200 ng.L⁻¹, cette variabilité inter-STEP étant également observée sur d'autres analytes, dont les β-bloquants.

Concernant les anti-inflammatoires kétoprofène, naproxène, diclofénac, ibuprofène et le paracétamol, les concentrations mesurées ici sont supérieures à celles relevées dans différentes études en Espagne (Gros *et al.*, 2006 ; Rosal *et al.*, 2010) mais en accord avec celles mesurées en Angleterre (Gardner *et al.*, 2013) et en France, dans le cadre du programme Ampères (Soulier *et al.*, 2011).

Enfin, les concentrations en carbamazépine sont également 2 à 4 fois supérieures à celles relevées dans les trois études espagnoles précédemment citées, au Texas (Etats-Unis) dans l'étude de Du *et al.* (2014) et en Grèce (Kosma *et al.*, 2014), mais du même ordre de grandeur que celles mesurées au Canada par Lajeunesse *et al.* (2012), en Corée par Sim *et al.* (2011) et en France dans le cadre du programme Ampères (Soulier *et al.*, 2011).

Les concentrations des effluents d'entrée sont donc très dépendantes des régions étudiées, vraisemblablement en raison d'usages de médicaments propres, mais aussi, au sein d'une même

région, de facteurs pouvant être liés au bassin de collecte ou à la typologie du réseau (dilution par les eaux claires parasites par exemple).

Le classement des molécules suivant les concentrations à la STEP Louis Fargue est similaire. En revanche, les concentrations y sont globalement 1,4 fois inférieures à celles relevées à Clos de Hilde (calcul sur les mois de temps sec), cette différence étant imputable aux ECPP. Le flux moyen par temps sec à Clos de Hilde et Louis Fargue, calculé comme le produit des concentrations mesurées et des débits d'entrée de STEP fournis par l'exploitant, est donné Figure 96.

Sur la globalité des molécules, le rapport de flux Clos de Hilde sur Louis Fargue est de $1,1 \pm 0,3$ et de $0,9 \pm 0,3$ après normalisation par le nombre d'habitants connectés. L'apport d'un habitant du bassin de collecte de l'une ou l'autre des STEP est donc équivalent. Celui de Louis Fargue, comportant 18 hôpitaux et cliniques (dont le principal centre du CHU de Bordeaux, l'hôpital Pellegrin) contre 7 sur Clos de Hilde, aurait pu présenter des contaminations supérieures. Ce résultat montre que la contribution des hôpitaux à la contamination globale en entrée de STEP est vraisemblablement mineure dans les apports globaux, plusieurs études à ce sujet vont dans ce sens, avec une contribution inférieure à 15 % des médicaments originaires des hôpitaux dans les flux d'entrée de STEP globaux (Thomas *et al.*, 2007 ; Ort *et al.*, 2010 ; Le Corre *et al.*, 2012).

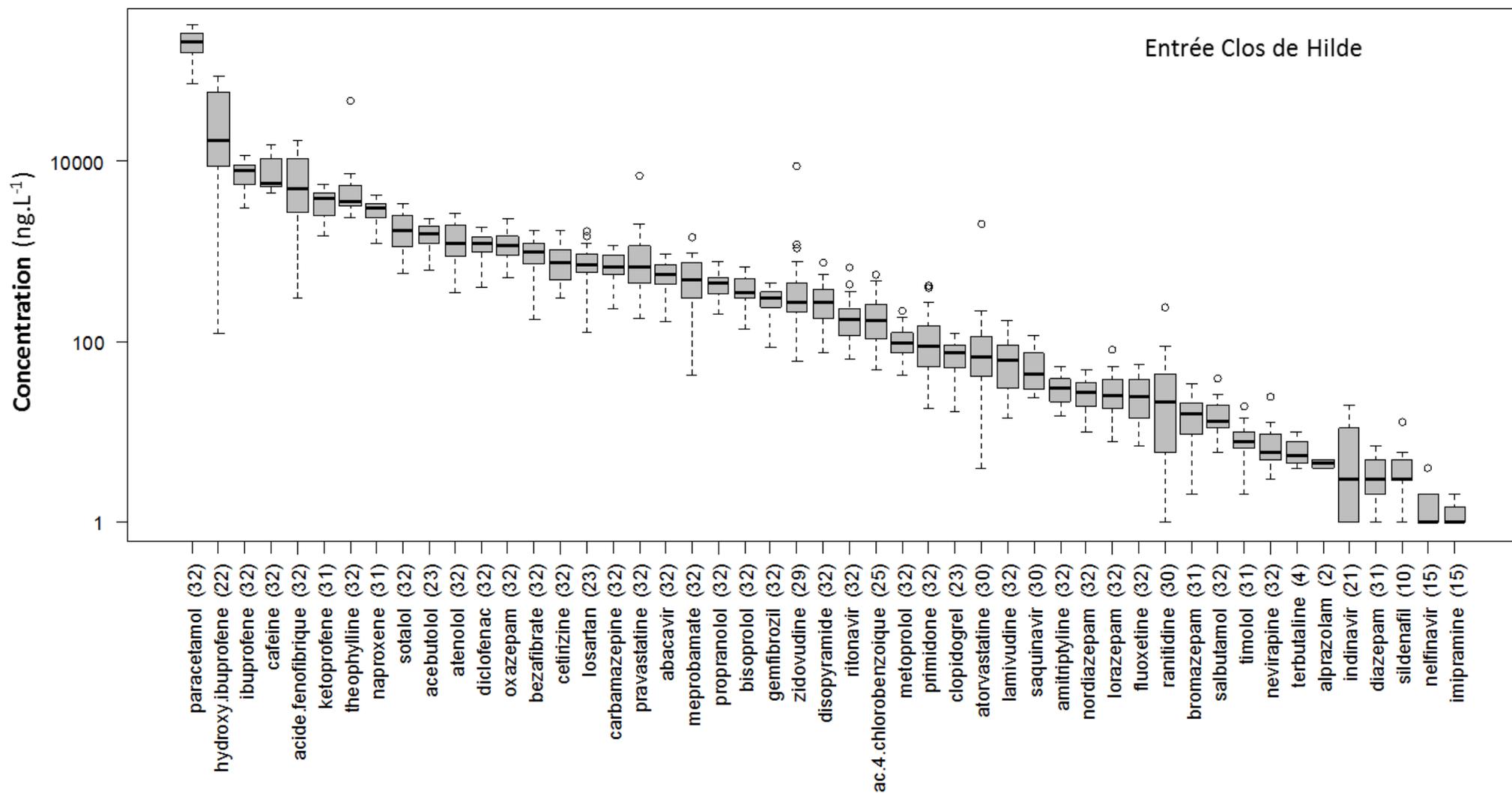


Figure 94. Concentrations mesurées sur l'ensemble des échantillons d'entrée de Clos de Hilde. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses.

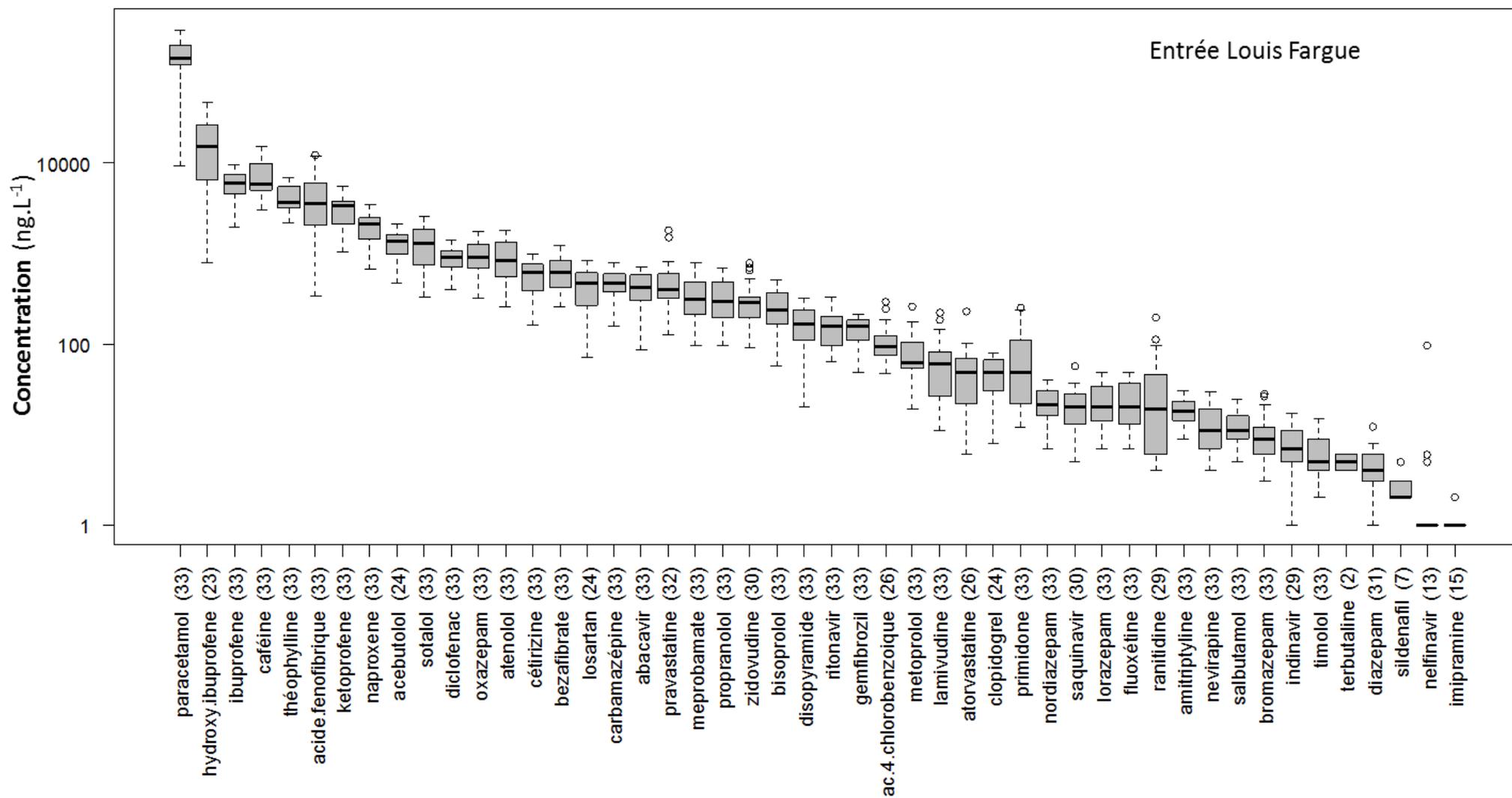


Figure 95. Concentrations mesurées sur l'ensemble des échantillons d'entrée de Louis Fargue. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses.

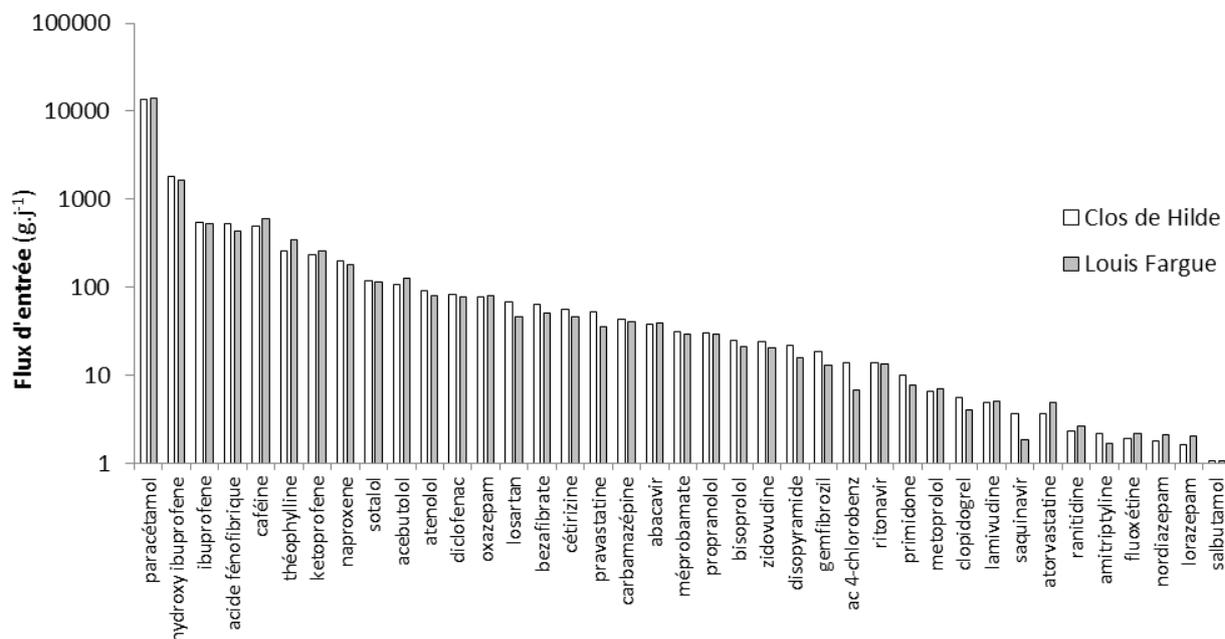


Figure 96. Flux d'entrée moyen par temps sec des STEP Clos de Hilde et Louis Fargue. Les molécules au flux inférieur à 1 g.j^{-1} ont été écartées. Le nombre de mesures par molécules est indiqué pour chaque STEP Figure 94 et Figure 95.

1.1.2 Comparaison des apports aux données de consommation

La contribution annuelle d'un habitant relié à la STEP Clos de Hilde est calculée comme le rapport du flux d'entrée de STEP par temps sec sur le nombre d'habitants du bassin de collecte (Figure 97). Le nombre d'habitants est obtenu de l'exploitant sur la base des estimations de l'INSEE. Le choix du temps sec (mois caractéristiques définis chapitre 2, section 1.1.2) permet de s'affranchir des éventuels déversements directs en Garonne susceptibles de diminuer le flux arrivant en STEP.

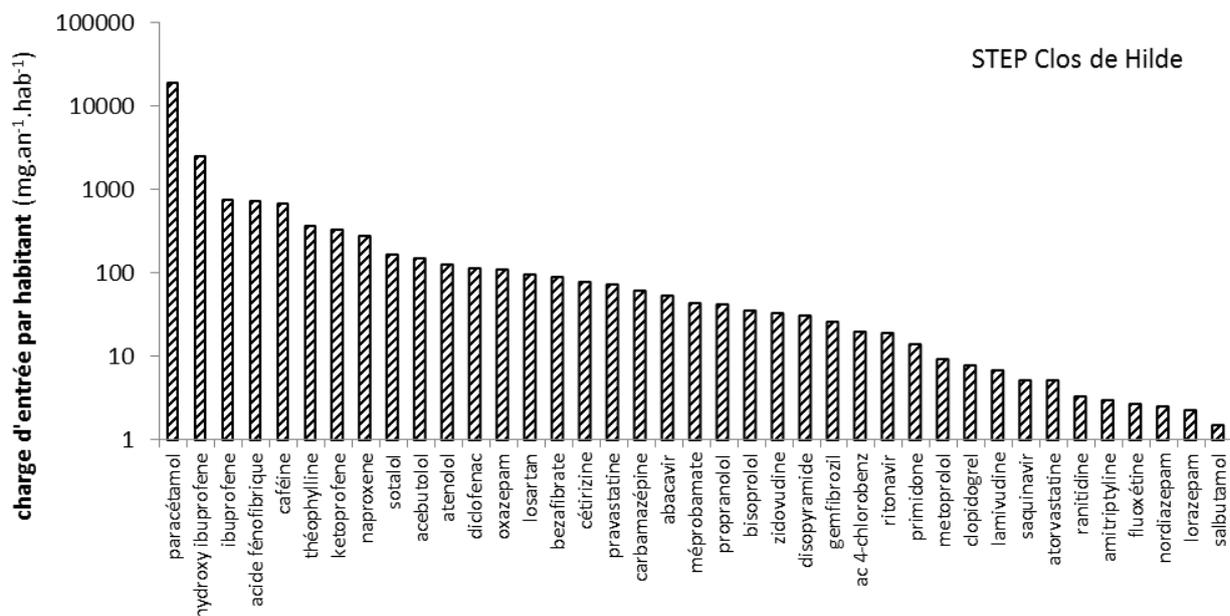


Figure 97. Contribution d'un habitant relié à la STEP Clos de Hilde aux flux d'entrée, calcul par temps sec. Les molécules au flux inférieur à 1 g.j^{-1} ont été écartées.

A titre d'exemple, un habitant relié à Clos de Hilde apporte en moyenne par an en entrée de STEP plus de 18 g de paracétamol (antalgique), 160 mg de sotalol (β -bloquant) ou 50 mg d'abacavir (anti-VIH).

Ces données ont été utilisées afin d'évaluer la possibilité de prédire les flux des molécules étudiées en entrée de STEP à partir des données de consommation MEDIC'AM 2010 (flux prédit, F_p). Pour cela, les flux calculés (F_c) en entrée de Clos de Hilde sont corrélés aux données MEDIC'AM. Si la corrélation de rang de Spearman présente un coefficient de 0,79, celui de la corrélation linéaire n'est que de 0,25 (exclusion du paracétamol et de l'hydroxy-ibuprofène à valeurs extrêmes trop fortes), rendant trop incertaine la possibilité de prédiction envisagée. L'examen des rapports flux calculé/consommation, noté F_c/C , montre, par exemple, que les flux prédits de caféine, timolol, cétirizine et théophylline sont largement sous-estimés par extrapolation des données de consommation (rapport F_c/C élevé). En effet, la caféine et la théophylline ont une source alimentaire non prise en compte dans ces calculs. Quant à la cétirizine, qui n'est que la 280^{ème} molécule la plus consommée en France (données MEDIC'AM 2010, cf. chapitre 1, section 2.4), mais qui constitue le métabolite principal de l'hydroxyzine (données Vidal, cf. chapitre 1, section 2.4), 92^{ème} molécule la plus consommée, son flux prédit est sous-estimé par les données de sa consommation en tant que telle. A l'opposé, les plus fortes surestimations des flux prédits à partir des données de consommation (faible F_c/C) s'observent pour les composés suivants : ranitidine, clopidogrel, névirapine et diazépam. Il a été montré précédemment que la ranitidine était sujette à des pertes lors du protocole de préparation d'échantillon (chapitre 3.1, section 1.2.1) ; sa sous-estimation analytique n'est donc pas à exclure. Clopidogrel, névirapine et diazépam sont largement métabolisés, respectivement en carboxy-clopidogrel, en divers métabolites hydroxylés puis conjugués de névirapine et en nordiazépam puis oxazépam, ce qui peut expliquer la faible valeur du rapport F_c/C . En conséquence, on pourrait s'attendre à un excédent de nordiazépam et d'oxazépam alors que leurs flux ne sont pas aberrants au regard de leur consommation.

Afin de tenter d'améliorer la comparaison entre les flux d'entrée annuels et les consommations MEDICAM, il est nécessaire de poser plusieurs hypothèses :

- le transport dans le réseau en amont de la STEP ne modifie pas les concentrations,
- les habitants de la CUB ont des consommations identiques aux moyennes françaises (ce qui est probable au regard des concentrations en entrée de STEP équivalentes entre celles de cette étude et les 21 documentées dans le programme Ampères ; Soulier *et al.*, 2011),
- la prise de médicaments ne se fait que par voie orale (application de taux de métabolisation moyens par prise orale),
- les médicaments ne sont disponibles que sur prescription.

Les flux d'entrée calculés sont donc corrigés pour chaque molécule par le taux d'excrétion de celle-ci sous forme inchangée. Ainsi, dans le cas du propranolol, excrété à 4 % sous forme inchangée, le flux calculé corrigé (F_{c-corr}) correspond au flux calculé multiplié par 25. Les rapports de flux calculés corrigés sur la consommation (F_{c-corr}/C) sont présentés dans le Tableau 59 pour les molécules excrétées sous forme inchangée à plus de 4 %.

Tableau 59. Taux d'excrétion sous forme inchangée et rapport des flux calculés corrigés sur les consommations (données MEDIC'AM, cf. chapitre 1, section 4.2.3). Rapports sans unité. Les rapports F_{c-corr}/C supérieurs à 10 ou inférieurs à 0,1 sont grisés.

Analyte	taux d'excrétion sous forme inchangée	F_{c-corr}/C	F_c/C	Molécules excrétées sous forme conjuguée ?
indinavir	0,18	1,0	0,18	oui
lamivudine	0,95	0,27	0,25	oui
nelfinavir	0,21	1,0	0,21	
ritonavir	0,30	1,9	1,6	
zidovudine	0,14	12	1,7	oui
naproxène	0,7	1,2	0,81	
ibuprofène	0,1	3,7	0,31	oui
paracétamol	0,045	12	0,53	oui
gemfibrozil	0,06	7,5	0,45	oui
bézafigrate	0,475	1,5	0,72	oui
aténolol	1	0,63	0,63	
bisoprolol	0,5	2,0	1,0	
métoprolol	0,048	2,1	0,09	
propranolol	0,04	7,4	0,3	
sotalol	0,9	1,5	1,4	
cétirizine	0,67	12	8,4	
ranitidine	0,5	0,07	0,035	
losartan	0,04	17	0,7	
disopyramide	0,5	3,1	1,5	

Sur les 19 molécules pour lesquelles le calcul est possible, 14 ont un flux qui diffère de moins d'un ordre de grandeur (facteur 10) de la donnée de consommation MEDIC'AM. L'aténolol est un bon traceur de consommation puisque son taux d'excrétion sous forme inchangée est de 1, reliant directement le flux par habitant en entrée de STEP à la consommation du principe actif, elle-même correctement estimée car ce principe actif n'est délivré que sur ordonnance. Il présente, avec un rapport de 0,63, un bon accord entre flux calculé et consommation donnée MEDIC'AM. En utilisant les hypothèses faites ci-dessus, l'estimation des consommations à partir des concentrations d'entrée est donc possible pour certaines molécules, et *vice versa*. Néanmoins, lorsque les molécules sont excrétées sous forme conjuguée, la correction des flux calculés est faussée puisqu'il a été démontré une déconjugaison dans le réseau (cf. chapitre 3.1, section 1.6), invalidant de ce fait la première hypothèse de corrélation flux-consommation. Ce peut être le cas de la zidovudine, molécule pour laquelle le rapport F_{c-corr}/C est largement supérieur à 1. Dans le cas du paracétamol, au rapport F_{c-corr}/C également élevé, l'excrétion sous forme conjuguée est majoritaire et les médicaments le contenant sont disponibles sans ordonnance. Cela rend impossible la corrélation flux-consommation puisque à la fois le flux calculé corrigé et la consommation MEDIC'AM sont faussés. Dans le cas de la cétirizine, il a déjà été fait état de son origine en tant que métabolite de l'hydroxyzine, le flux en entrée étant donc issu de la contribution des médicaments contenant ces deux principes actifs.

1.2 Etude des eaux de sortie de STEP

1.2.1 Occurrence et gamme de concentration

Les taux de détection sont calculés par niveau de traitement équivalent, sur les échantillons de sortie traitée biologique de Clos de Hilde et Louis Fargue réunis et de sortie décantée de Louis Fargue. On détecte respectivement 36 et 33 molécules systématiquement dans les eaux traitées biologiques et dans les eaux décantées, tandis que 4, respectivement 5 ne le sont jamais.

Les taux de détection observés sur l'alprazolam illustrent l'effet de matrice avec une détection quasi-systématique en sortie traitée biologique et une non détection dans les eaux uniquement décantées (cf. chapitre 3.1, section 1.2.5).

Tableau 60. Taux de détection (%) relevés sur les 72 échantillons d'eau de sortie biologique et les 30 échantillons de sortie décantée.

analyte	Taux de détection		analyte	Taux de détection	
	sortie traitée bio	sortie décantée		sortie traitée bio	sortie décantée
abacavir	100	100	pravastatine	100	100
indinavir	96	83	atorvastatine	75	83
lamivudine	100	100	atérolol	100	100
nelfinavir	79	77	bisoprolol	100	100
névirapine	100	100	métoprolol	100	100
ritonavir	100	100	propranolol	100	100
saquinavir	99	90	sotalol	100	100
zidovudine	92	83	timolol	100	100
bromazépam	100	97	acébutolol	100	100
nordiazépam	100	100	imipramine	85	57
alprazolam	93	0	doxépine	0	0
diazépam	100	100	amitriptyline	100	100
oxazépam	100	100	fluoxétine	100	100
lorazépam	100	100	primidone	100	97
clonazépam	0	0	carbamazépine	100	100
méprobamate	100	100	cétirizine	100	100
kétoprofène	100	100	ranitidine	92	87
naproxène	100	100	clenbuterol	0	0
diclofénac	100	100	caféine	100	100
ibuprofène	100	100	théophylline	100	100
hydroxy-ibuprofène	86	73	sildénafil	94	52
paracétamol	15	100	losartan	100	70
gemfibrozil	100	100	salbutamol	100	97
bézafibrate	100	100	clopidogrel	100	100
ac. 4-chlorobenzoïque	83	80	terbutaline	3	3
acide fénofibrique	100	100	disopyramide	100	100
acide clofibrique	0	0			

Les valeurs numériques (moyenne, écart-type, 1^{er} et 3^{ème} quartile) sont données en Annexe 13. L'étendue des concentrations va de la LD à plus de 2000 ng.L⁻¹ dans le cas de l'acide fénofibrique

(Figure 98 et Figure 99). On note la non-détection du paracétamol en sortie traitée biologique dans une majorité d'échantillons. Le classement des molécules selon leur concentration médiane en sortie traitée biologique de Clos de Hilde est le suivant :

> 1000 ng.L ⁻¹ (8) :	acide fénofibrique, théophylline, naproxène, caféine, sotalol, kétoprofène, hydroxy-ibuprofène, oxazépam
100 à 1000 ng.L ⁻¹ (17) :	aténolol, acébutolol, ibuprofène, bézafibrate, diclofénac, carbamazépine, cétirizine, méprobamate, propranolol, bisoprolol, losartan, acide 4-chlorobenzoïque, abacavir, gemfibrozil, disopyramide, zidovudine, ritonavir
< 100 ng.L ⁻¹ (22) :	métoprolol, pravastatine, primidone, lamivudine, lorazépam, nordiazépam, fluoxétine, amitriptyline, clopidogrel, bromazépam, salbutamol, atorvastatine, timolol, névirapine, saquinavir, alprazolam, sildénafil, indinavir, diazépam, imipramine, ranitidine, nelfinavir
Non détectées (6) :	clonazépam, paracétamol, acide clofibrique, doxépine, clenbuterol, terbutaline

Les différences par rapport à la littérature observées dans l'effluent de sortie sont similaires à celles observées dans les eaux d'entrée de STEP. Bromazépam a été quantifié à des concentrations de 100 à plus de 15 000 ng.L⁻¹ dans l'étude de Huerta-Fontela *et al.* (2010) contre une concentration de 14 ± 4 ng.L⁻¹ dans ces travaux. Les concentrations d'oxazépam reportées dans les études de Huerta-Fontela *et al.* (2010) et Baker et Kasprzyk-Hordern (2013) sont en revanche plus faibles : inférieures à 400 ng.L⁻¹ contre des concentrations médianes supérieures à 1000 ng.L⁻¹ mesurées à Clos de Hilde et Louis Fargue. Les concentrations d'anti-inflammatoires sont également supérieures dans les effluents de Clos de Hilde et Louis Fargue (cas de l'ibuprofène aux concentrations médianes de 860 et 1560 à Clos de Hilde, respectivement Louis Fargue) que dans les effluents étudiés par Gros *et al.* (2006) et Rosal *et al.* (2010) (concentrations moyennes en ibuprofène inférieures à 300 ng.L⁻¹). Les effluents de sortie de 14 STEP étudiées par Soulier (2012) montrent de grandes variations de concentration en fonction du traitement secondaire utilisé : les concentrations en ibuprofène y varient de 25 ng.L⁻¹ dans le cas de bioréacteurs membranaires à plus de 3000 ng.L⁻¹ après traitement par boues activées moyenne charge, les concentrations mesurées en sortie de Clos de Hilde et Louis Fargue étant incluses dans cette gamme.

Dans le cas des eaux en sortie décantée (Figure 100), les gammes de concentrations sont équivalentes à celles rencontrées en entrée de STEP, traduisant une faible élimination en concentration par décantation primaire.

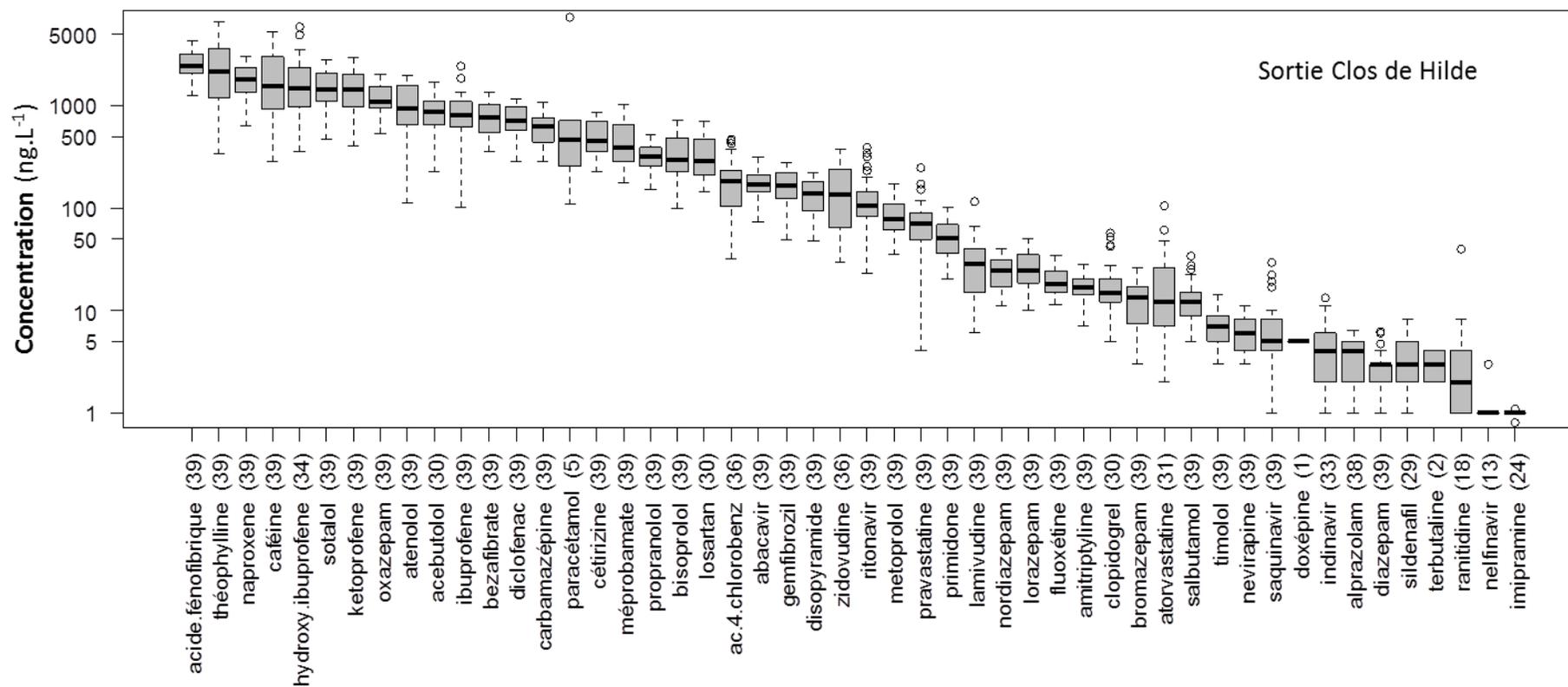


Figure 98. Concentrations mesurées sur l'ensemble des échantillons de sortie de Clos de Hilde. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses.

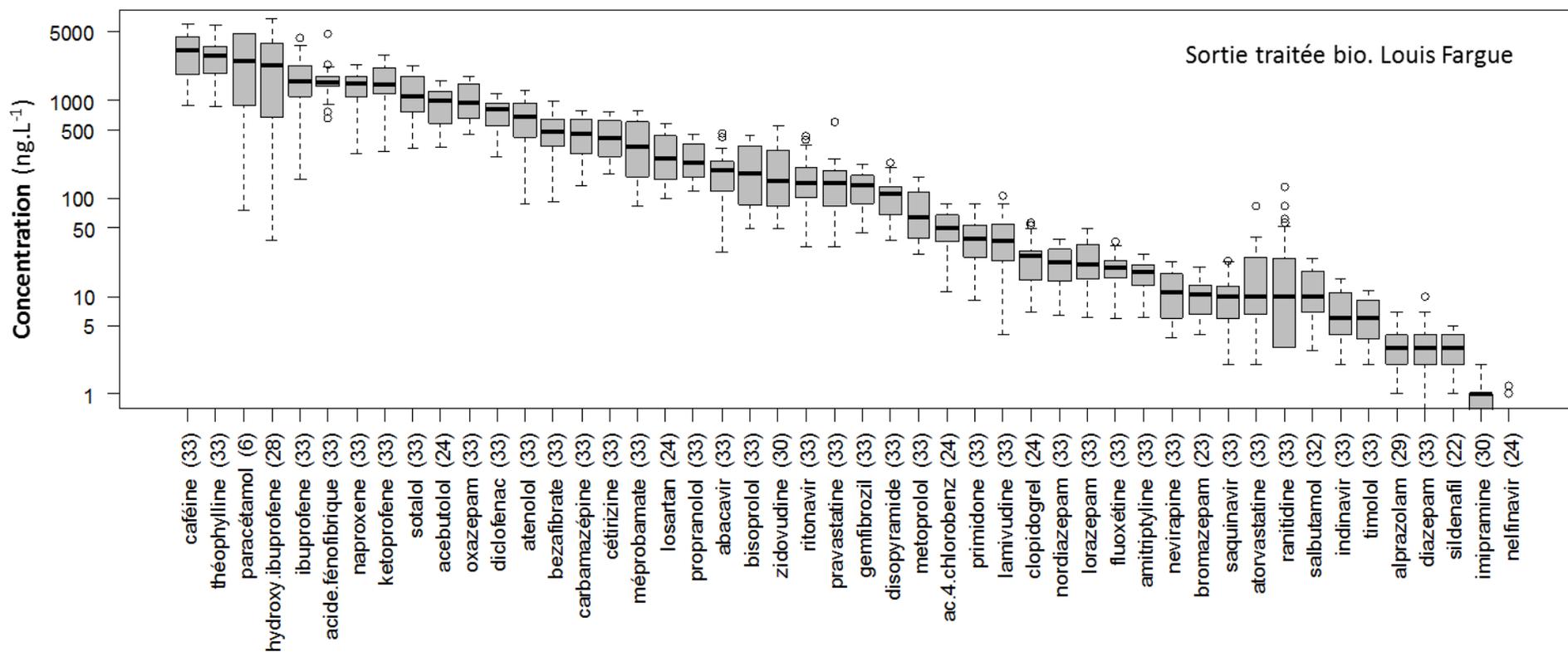


Figure 99. Concentrations mesurées sur l'ensemble des échantillons de sortie traitée biologique de Louis Fargue. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses.

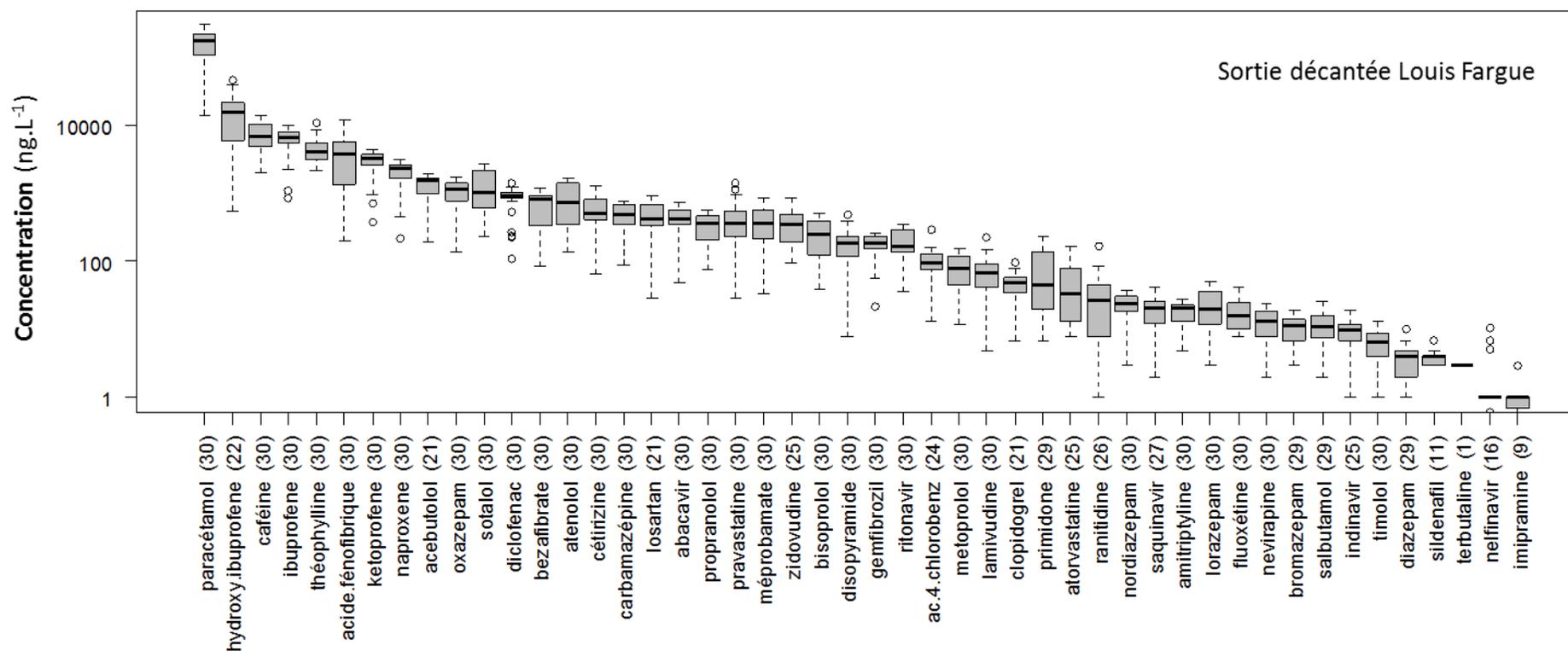


Figure 100. Concentrations mesurées sur l'ensemble des échantillons de sortie décantée de Louis Fargue. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses.

1.2.2 Comparaison en sortie des filières de traitement

Filières biologiques de Clos de Hilde (CHET1-CHET2)

Les filières CHET1 et CHET2 sont équivalentes en traitement (biofiltres). La concentration mesurée en sortie de filière CHET2 est rapportée à la concentration mesurée en sortie de filière CHET1 pour les campagnes de décembre 2011 et janvier 2012 (seules campagnes où la filière CHET1 était en fonctionnement). Le rapport de concentration moyen pour l'ensemble des molécules est de $1,02 \pm 0,28$, les rapports de chaque molécule prise individuellement étant donnés dans la Figure 100. Ces observations conduisent à conclure à l'absence de différence entre les filières aux écarts-types près.

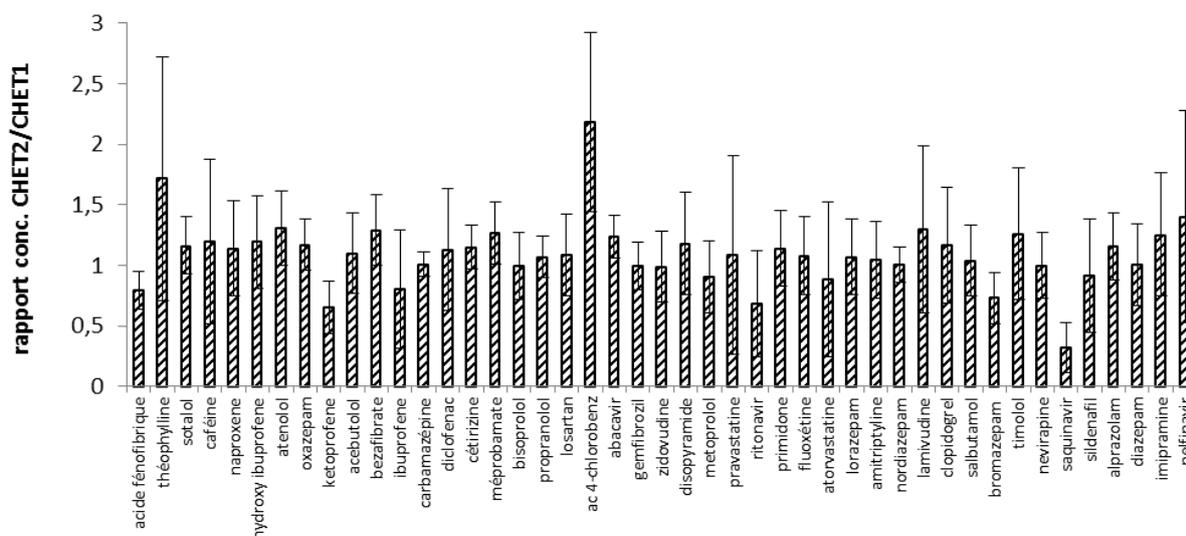


Figure 101. Rapports de concentration moyen (n=6) pour les observations de CHET2 par rapport à CHET1 en décembre 11 et janvier 12. Les molécules sont rangées par ordre décroissant de concentration en CHET2.

Filières biologiques de Clos de Hilde et Louis Fargue (CHET2-LFET)

Le point de mesure LFET correspond à la sortie du traitement biologique par boues activées. Le rapport de concentration moyen pour l'ensemble des observations de CHET2 par rapport à LFET est compris entre 1 et 1,5 pour une majorité de molécules (Figure 102). Malgré une assez forte variabilité, cette observation est à rapprocher du constat établi en section 1.1.1 de ce chapitre, indiquant des concentrations 1,4 fois plus élevées dans les effluents d'entrée de Clos de Hilde que dans ceux de Louis Fargue. Le plus faible rapport de concentration de l'ibuprofène est associé à un rapport plus élevé de l'hydroxy-ibuprofène. Quintana *et al.* (2005) a montré que l'hydroxy-ibuprofène est généré par dégradation d'ibuprofène lors des traitements biologiques en STEP, ces résultats suggèrent donc de meilleures performances de traitement pour cette molécule à Louis Fargue qu'à Clos de Hilde.

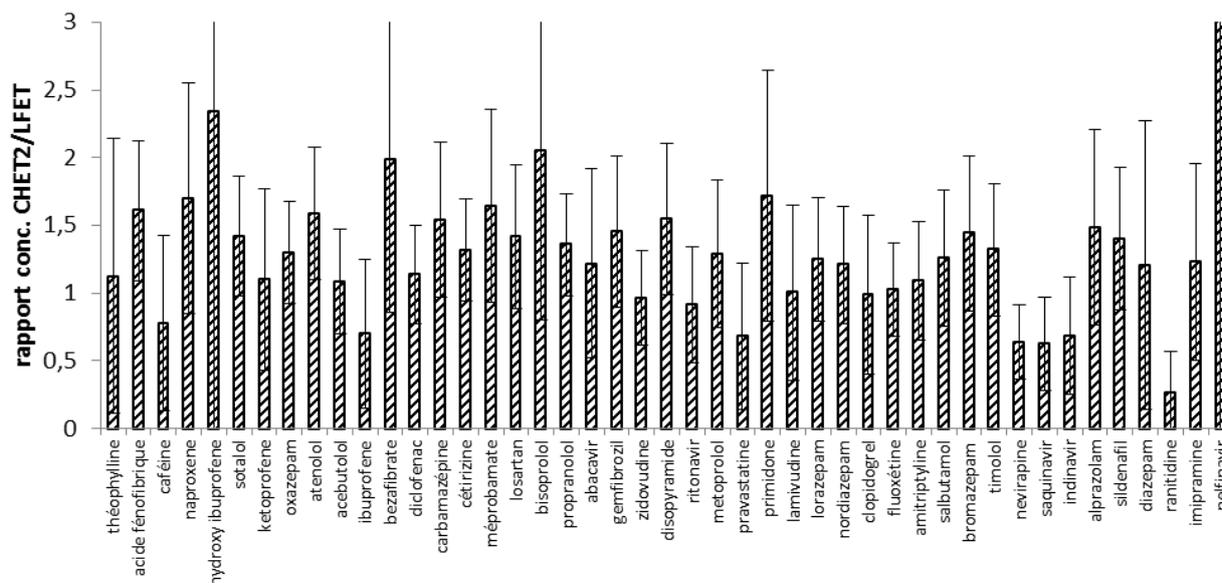


Figure 102. Rapports de concentration moyen (n=23 à 33) pour l'ensemble des observations de CHET2 par rapport à LFET. Les molécules sont rangées par ordre décroissant de concentration en CHET2.

Filière physico-chimique et biologique de Louis Fargue (LFED-LFET)

Le point de mesure LFED correspond à la sortie de traitement primaire (décantation). L'examen des rapports de concentration entre l'effluent décanté LFED et l'effluent traité biologiquement LFET (Figure 103) indique une contamination globalement supérieure des eaux uniquement décantées par rapport aux eaux traitées biologiquement. Le rapport varie de 1 pour l'oxazépam à plus de 800 pour le paracétamol.

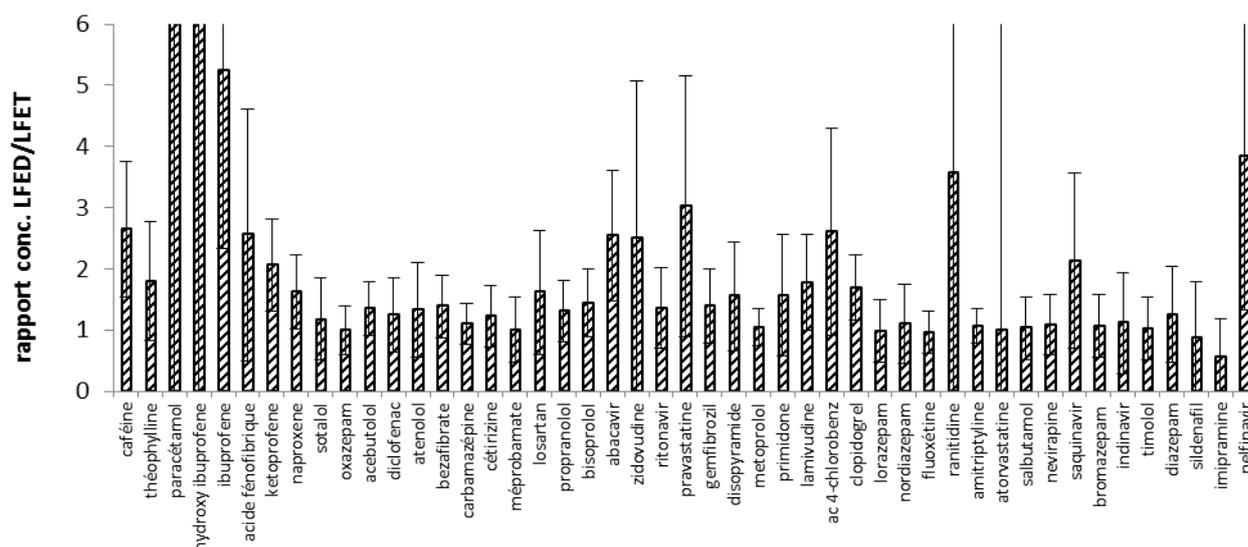


Figure 103. Rapport de concentration moyen (n=20 à 30) pour l'ensemble des observations de LFED par rapport à LFET. Les molécules sont rangées par ordre décroissant de concentration en LFET. Le paracétamol et l'hydroxy-ibuprofène, hors échelle, prennent respectivement les valeurs de 823 et 31.

Sorties générales de Clos de Hilde et Louis Fargue

Connaissant les débits des bypass et des deux filières, ainsi que la concentration des différents composés les constituant, la concentration en analytes de la sortie générale rejetée en Garonne a été calculée. Ce rejet général en Garonne est composé à la STEP Clos de Hilde (CHSG) des effluents des filières CHET1 et CHET2 et à la STEP Louis Fargue (LFSG) des éventuels effluents d'entrée bypassés (LFE), de ceux décantés (LFED) et de ceux traités biologiquement (LFET). L'effluent CHSG est composé uniquement de CHET2 pour 9 des 11 campagnes et équivalent à CHET2 pour les 2 autres puisqu'il a été montré précédemment la similarité de CHET1 et CHET2. A Louis Fargue, la contribution de l'effluent uniquement décanté dans la composition de l'effluent de sortie générale n'est pas négligeable (Figure 104) et peut atteindre 94 % (paracétamol) pour une contribution moyenne au débit de 42 %. Concernant la contribution de l'effluent d'entrée LFE, due au bypass général de la station, les faibles volumes bypassés donnent une contribution moyenne négligeable.

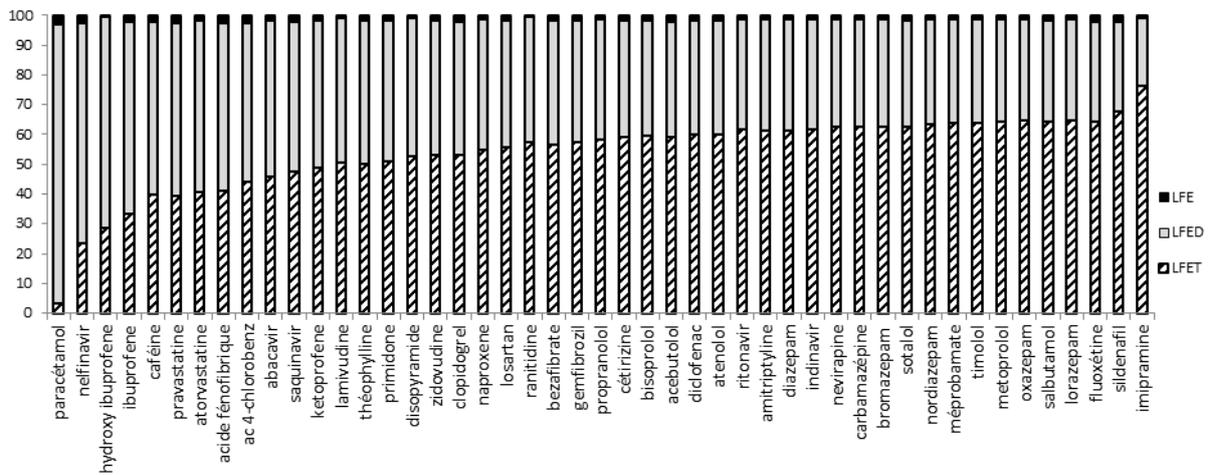


Figure 104. Contribution à la concentration calculée en LFSG (pourcentage, moyenne des 10 campagnes).

Ainsi, puisque les niveaux de concentration entre LFET et CHET2 sont équivalents, l'apport supplémentaire dû à l'effluent uniquement décanté implique que la STEP Louis Fargue rejette un effluent globalement plus contaminé que celui de Clos de Hilde, en particulier pour les molécules bien traitées dans les procédés secondaires biologiques.

1.3 Rendements d'épuration

Cette partie vise à déterminer les rendements d'épuration de la phase dissoute, c'est-à-dire les taux d'abattement des flux de molécules entre la phase dissoute d'entrée et de sortie, des deux stations d'épuration à l'étude. La méthodologie de calcul des rendements présentée ci-après est basée sur celle développée lors du programme Ampères (Choubert *et al.*, 2011b) et a été conduite en partenariat avec le CIRSEE (Sophie Besnault).

1.3.1 Méthodologie

L'étude de la STEP Louis Fargue est limitée à sa configuration d'avant réhabilitation (décembre 2011).

Les flux d'entrée et de sortie sont sommés sur les 3 jours de prélèvement. Les concentrations $C_{\text{entrée}}$ et C_{sortie} sont les valeurs moyennes des concentrations mesurées sur les 3 jours de prélèvement. Les concentrations en sortie sont celles calculées en sortie générale (cf. section 1.2.2 de ce chapitre, Sorties générales de Clos de Hilde et Louis Fargue).

Le facteur f , définissant la robustesse de la valeur du rendement, est introduit. Il caractérise les seuils haut et bas de confiance : de LQ à $f.LQ$ la mesure est considérée comme réalisée avec une incertitude de 100 %, au-delà de $f.LQ$ avec une incertitude de 30 %. Le choix de f dépend de la fiabilité analytique de chaque molécule : si elle est quantifiée par son propre homologue marqué pour étalon interne, le facteur f est pris égal à 3 et dans le cas contraire il est pris égal à 5, les résultats développés dans le chapitre des validations méthodologiques ayant montré une plus faible variabilité lors d'une quantification par rapport à l'homologue marqué (cf. chapitre 3.1, section 1.2.1).

Les LQ sont dépendantes de la matrice entrée ou sortie.

Ainsi, les conditions suivantes sont définies :

- Le rendement n'est pas calculable si :
 1. $C_{\text{entrée}} < LQ_{\text{entrée}}$
 2. $C_{\text{entrée}} < f.LQ_{\text{entrée}}$ et $C_{\text{sortie}} > LQ_{\text{sortie}}$ mais $< f.LQ_{\text{sortie}}$
- Le rendement est calculé avec une incertitude élevée si :
 $C_{\text{entrée}} < f.LQ_{\text{entrée}}$ et $C_{\text{sortie}} < LQ_{\text{sortie}}$
- Le rendement est considéré comme robuste et affecté d'une faible incertitude dans les autres cas.
- Lorsque le rendement est calculable et que C_{sortie} est inférieure à LQ_{sortie} , la valeur de concentration retenue en sortie est $LQ_{\text{sortie}}/2$.

Pour les deux stations d'épuration, 37 molécules sur les 53 analysées sont quantifiées dans des conditions permettant le calcul d'un rendement d'élimination dans plus de la moitié des mesures (Tableau 61).

Tableau 61. Nombre de molécules pour lesquelles le calcul d'un rendement est possible.

	Rendements globaux STEP		Rendement par procédé LF	
	CH	LF	LFE>LFED	LFED>LFET
nombre de molécules où le calcul d'un rendement est toujours possible	28	25	25	24
nombre de molécules où le calcul d'un rendement est possible dans plus de la moitié des cas	37	37	37	37
nombre de molécules où le calcul d'un rendement est impossible	11	12	9	11

Les raisons ayant entraîné l'exclusion de 17 molécules dans plus de 50 % des cas sont précisées dans le Tableau 62.

Tableau 62. Raisons ayant entraîné l'exclusion d'une molécule dans le calcul du rendement.

Analyte	déTECTÉ mais LQ élevée > 10 ng.L ⁻¹	déTECTÉ mais concentration faible < 10ng.L ⁻¹	Non déTECTÉ
primidone (LF)	X		
indinavir (CH)		X	
timolol		X	
sildénafil		X	
nelfinavir		X	
bromazépam		X	
alprazolam		X	
diazépam		X	
lorazépam	X		
clonazépam			X
ac. 4-chlorobenzoïque	X		
acide clofibrique			X
atorvastatine	X		
imipramine			X
doxépine			X
clenbuterol			X
terbutaline			X

Pour les 11 observations mensuelles sur les deux stations d'épuration et les 53 médicaments, 1166 couples flux d'entrée - flux de sortie ont été acquis, dont 774 permettent la détermination fiable d'un rendement d'épuration, et 376 sont à rejeter pour les raisons mentionnées ci-dessus. Seuls 3 couples présentent des incertitudes élevées en raison de concentrations en entrée dans la plage [LQ,f.LQ]. La non détection en sortie concerne 13 couples pour lesquels une valeur arbitraire de LQ/2 a été prise comme concentration de sortie.

1.3.2 Rendements moyens par molécule

Le Tableau 63 présente les rendements moyens obtenus par molécule à Clos de Hilde et Louis Fargue pour les 11 observations mensuelles.

Tableau 63. Rendements moyens par molécule. s : écart-type sur le rendement. n= nombre d'observations permettant le calcul d'un rendement. Les rendements compris dans une gamme [70,100] figurent en vert, dans une gamme [30,70] en orange et dans une gamme [0,30] en rouge.

Classe	Analyte	CH	s	n=	LF	s	n=
Anti-rétroviraux	abacavir	68	11	11	42	8	11
	indinavir	33	21	5	2	38	9
	lamivudine	58	12	9	32	16	9
	nelfinavir	88	-	1	92	-	1

Classe	Analyte	CH	s	n=	LF	s	n=
	névirapine	24	22	6	15	18	10
	ritonavir	39	16	11	8	28	11
	saquinavir	84	11	11	35	12	9
	zidovudine	49	38	10	26	34	10
Psycholeptiques	bromazépam	-	-	-	-	-	-
	nordiazépam	15	16	11	8	14	11
	alprazolam	-	-	-	-	-	-
	diazépam	-	-	-	57	-	1
	oxazépam	7	19	11	5	17	11
	lorazépam	-	-	-	-	-	-
	clonazépam	-	-	-	-	-	-
	méprobamate	0	24	11	6	18	11
Analgésiques	kétoprofène	59	12	11	38	8	11
	naproxène	36	14	11	23	20	11
	diclofénac	40	9	11	20	16	11
	ibuprofène	90	4	11	50	8	11
	hydroxy-ibuprofène	84	20	9	54	28	9
	paracétamol	100	1	11	63	7	11
	Hypolipidémiants	gemfibrozil	43	12	11	8	12
bézafibrate		20	18	11	18	18	11
ac. 4-chlorobenzoïque		-	-	-	-	-	-
acide fénofibrique		51	43	11	39	22	11
acide clofibrique		-	-	-	-	-	-
pravastatine		91	6	11	52	17	11
atorvastatine		99	-	1	-	-	-
β-bloquants	aténolol	32	11	11	23	24	11
	bisoprolol	22	22	11	21	17	11
	métoprolol	19	16	11	15	20	10
	propranolol	33	13	11	20	15	11
	sotalol	23	13	11	14	18	11
	timolol	10	11	5	8	18	3
	acébutolol	43	18	8	29	15	8
Antidépresseurs	imipramine	-	-	-	-	-	-
	doxépine	-	-	-	-	-	-
	amitriptyline	47	15	11	14	12	11
	fluoxétine	25	30	11	12	30	11
Anticonvulsivants	primidone	53	25	8	33	17	5
	carbamazépine	15	14	11	9	12	11
Antihistaminiques	cétirizine	35	16	11	18	20	11
	ranitidine	93	6	9	32	29	7
Autres	clenbuterol	-	-	-	-	-	-
	caféine	73	20	11	38	7	11
	théophylline	37	49	11	16	11	11
	sildénafil	0	61	3	-	-	-
	losartan	48	38	8	21	26	8
	salbutamol	17	12	11	12	22	10

Classe	Analyte	CH	s	n=	LF	s	n=
	clopidogrel	70	22	8	35	17	8
	terbutaline	-	-	-	-	-	-
	disopyramide	47	19	11	24	20	11

La dispersion de ces rendements par molécules est représentée dans le diagramme en boîtes de la Figure 105 pour la STEP Clos de Hilde (donc pour un traitement par biofiltration). Les rendements moyens s'étendent de 0 % (méprobamate) à 100 % (paracétamol). L'espace interquartile est supérieur à 50 % pour l'acide fénofibrique, la zidovudine et la théophylline. Si on raisonne par classe thérapeutique, on constate que les analgésiques sont relativement mieux traités que les β -bloquants et les psychotropes au sens large (psycholeptiques et antidépresseurs). On observe cependant une forte variabilité par classe, le traitement en STEP étant dépendant de la nature physico-chimique des molécules et non de leur fonction thérapeutique.

Les rendement d'épuration des molécules les plus réfractaires et des plus dégradables sont équivalents à ceux renseignés dans la littérature : paracétamol, ibuprofène et caféine sont reconnus comme dégradables (Soulie *et al.*, 2011 ; Rosal *et al.*, 2010) alors que carbamazépine est conservée lors des traitements en STEP (Soulie *et al.*, 2011 ; Rosal *et al.*, 2010 ; Lajeunesse *et al.*, 2012 ; Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013). En revanche, dans le cas des comportements intermédiaires, les données de la littérature peuvent montrer de grandes variabilités entre elles et avec celles de ces travaux, pour des traitements secondaires biologiques pourtant équivalents. Ainsi, le diclofénac présente un rendement moyen d'épuration de 40 % à Clos de Hilde alors qu'il peut être considéré comme réfractaire dans les travaux de Soulie *et al.* (2011) et Rosal *et al.* (2010) avec des rendements respectifs de 9 et 5 %. A l'inverse, la fluoxétine se situe ici dans la catégorie des rendements d'épuration faibles (25 %) mais on trouve dans la littérature, pour des traitements secondaires biologiques équivalents, des rendements de 50 %, 62 %, 48 % et 50 % (respectivement : Soulie *et al.*, 2011 ; Rosal *et al.*, 2010 ; Lajeunesse *et al.*, 2012 ; Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013). Lajeunesse *et al.* (2012) ont montré, sur une sélection d'antidépresseurs, l'influence de la température de l'effluent sur les rendements d'épuration avec des valeurs globalement 11 % plus faible en hiver (11 °C) qu'en été (21 °C). Le suivi des STEP de l'agglomération bordelaise n'a toutefois pas mis en évidence de variation saisonnière significative des rendements d'épuration, l'amplitude thermique été-hiver étant plus limitée (de 14 °C à \approx 20 °C, Lyonnaise des Eaux, communication personnelle).

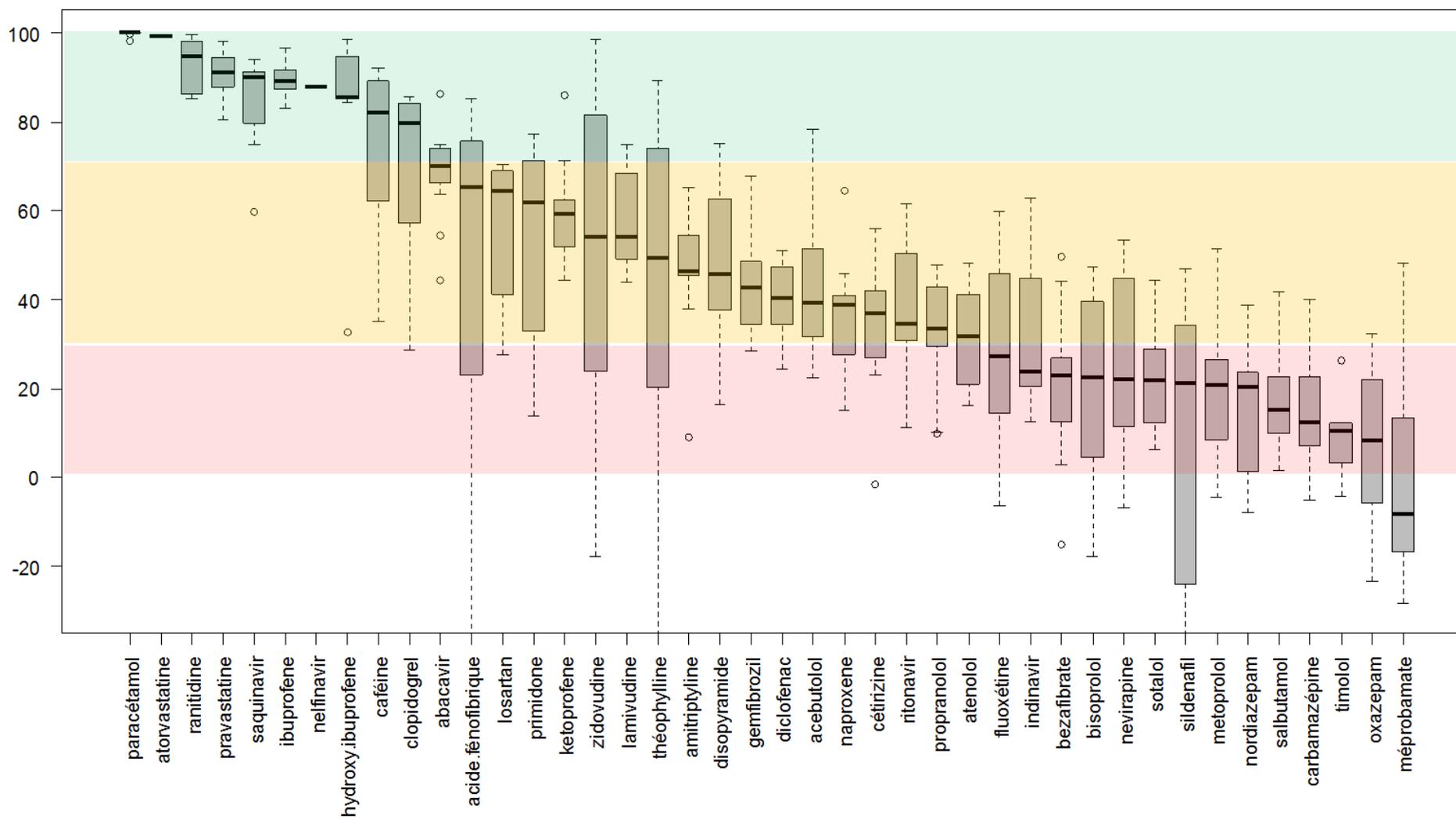


Figure 105. Gammes de rendements obtenus sur l'ensemble des mesures, pour l'intégralité des molécules présentant au moins un rendement calculable à la station Clos de Hilde. Le code couleur représente les gammes > 70 %, > 30 % - < 70 % et < 30 %.

1.3.3 Comparaison des STEP CH et LF à traitement équivalent

Les rendements moyens d'abattement sur les 11 campagnes ont été classés dans 3 catégories associées à un code couleur : inférieurs à 30 % (rouge), compris entre 30 et 70 % (orange) et supérieurs à 70 % (vert). Les rendements d'élimination des STEP Clos de Hilde et Louis Fargue (excluant le bypass du traitement biologique) sont donnés Figure 106. La station Clos de Hilde présente des performances d'épuration supérieures avec un plus grand nombre de molécules dans les catégories > 70 % et [30 %, 70 %]. Choubert *et al.* (2011a) ont comparé les rendements d'épuration entre procédés à culture fixées (type Clos de Hilde) et boues activées faible charge (donc plus performantes que Louis Fargue, forte charge) et trouvent des performances équivalentes entre ces deux procédés. En revanche, Baker et Kasprzyk-Hordern (2013) trouvent des rendements d'épuration légèrement supérieurs pour les boues activées. La comparaison des observations de ce travail à celles de ces deux études confirme les spécificités de chaque STEP, même à procédé équivalent.

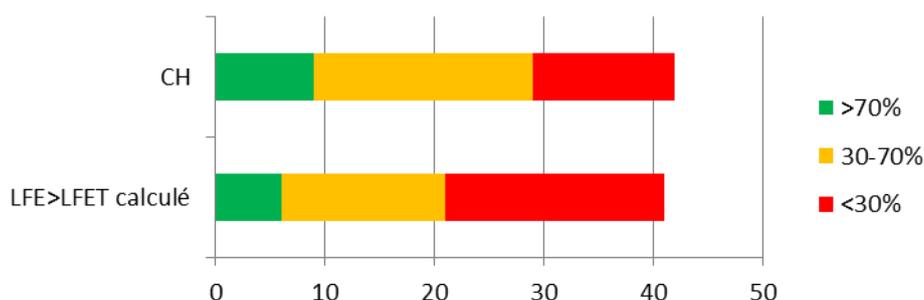


Figure 106. Nombre de molécules par classe de rendement (pour toutes les molécules présentant au moins un rendement calculable). Les molécules présentant un rendement à incertitude élevée (Centrée < f.LQ) ont été incluses.
LFE>LFET : calcul du rendement d'épuration en l'absence de bypass.

1.3.4 Comparaison des filières de traitement de Louis Fargue

A la station d'épuration Louis Fargue (Figure 107), le traitement primaire n'élimine que très peu de molécules de la phase dissoute (39/44 molécules à moins de 30 %), observations en accord avec les faibles performances d'épuration des traitements primaires étudiés dans Choubert *et al.* (2011a), Soulier *et al.* (2011) et Stasinakis *et al.* (2013) pour l'élimination des molécules hydrophiles. En revanche, le traitement par boues activées est plus performant, réduisant ce ratio à 25/42 molécules éliminées à moins de 30 %.

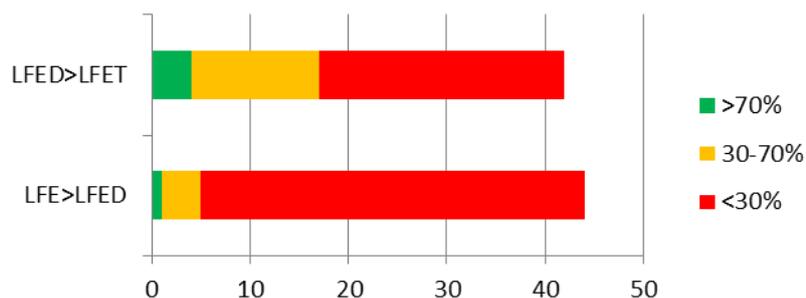


Figure 107. Nombre de molécules par classe de rendement sous les mêmes hypothèses que précédemment. LFE>LFED : traitement primaire physico-chimique, LFED>LFET : traitement secondaire par boues activées.

1.3.5 Comparaison des sorties générales des STEP

La sortie générale, incluant la proportion d'eau uniquement décantée de la STEP Louis Fargue (telle que définie en section 1.2.2 de ce chapitre), est ici considérée. Le nombre de molécules dans chacune de ces catégories est représenté Figure 108.

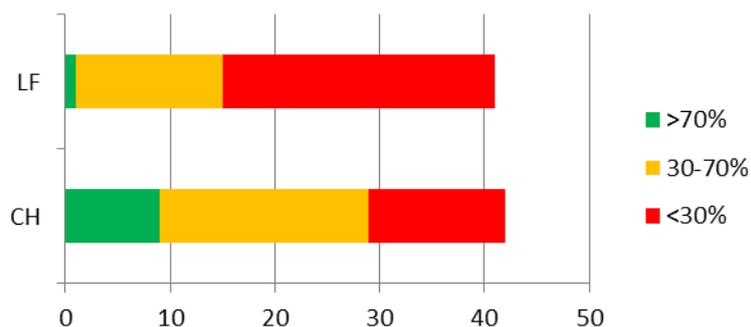


Figure 108. Nombre de molécules par classe de rendement sous les mêmes hypothèses que précédemment.

A la STEP Louis Fargue, une grande majorité de molécules (26/41) sont faiblement éliminées (moins de 30 %) de la phase dissoute tandis qu'à Clos de Hilde, ce rapport descend à 14/42 alors que 9 molécules sont éliminées à plus de 70 %. Les performances de traitement de la station Clos de Hilde sont donc supérieures à celles de la station Louis Fargue prise dans son intégralité, ce résultat étant dû à la proportion d'eaux non traitées par procédé biologique secondaire.

1.3.6 Etude de la STEP Louis Fargue après réhabilitation

La STEP Louis Fargue a été échantillonnée dans sa nouvelle configuration le 28, 29 et 30 mai 2012 selon la même méthode de prélèvement que lors du suivi annuel. Les rendements d'épuration de la STEP Louis Fargue après sa réhabilitation sont comparés aux rendements avant réhabilitation et à ceux de Clos de Hilde Figure 109. Le calcul est basé sur les hypothèses détaillées en section 1.3.1 de

ce chapitre, à la différence près que les flux de chaque jour ont été considérés individuellement et non sommés afin de conserver l'information de variabilité.

Seuls les méprobamate, paracétamol, amitriptyline et disopyramide présentent des rendements significativement améliorés dans la nouvelle configuration de la STEP.

Le ritonavir et l'acide fénofibrique ont des rendements négatifs et significativement moins bons qu'avant réhabilitation. Bien qu'il faudrait confirmer cette observation par un plus grand nombre de mesures après réhabilitation, plusieurs pistes d'explication sont envisageables : le ritonavir est hydrophobe ($\log D = 5,22$ à $\text{pH} = 7$; cf. chapitre 4.2, section 2.2) et pourrait être libéré par les MES tandis que l'acide fénofibrique, métabolite humain du fénofibrate (cf. chapitre 1, section 4.2.3), pourrait être généré par dégradation de ce dernier, cette transformation *in-situ* n'ayant pas fait l'objet d'études dans la littérature.

La comparaison aux performances de la station Clos de Hilde indique de plus faibles rendements d'épuration à Louis Fargue pour des procédés pourtant équivalents. En outre, plus de 1000 ng.L^{-1} de paracétamol est mesuré en sortie de Louis Fargue en mai 2012, cette molécule étant considérée comme un traceur d'effluents non traités. Par ailleurs, les mesures d'autosurveillance de la STEP donnent pour les 29 et 30 mai des concentrations en azote et phosphore total en sortie de traitement les plus élevées de mai 2012, supérieures d'un facteur 2 à la moyenne enregistrée ce mois (Tableau 64). En outre, les concentrations en azote et phosphore total lors de ces 2 jours sont du même ordre de grandeur en entrée et en sortie de STEP, indiquant une élimination minimale de ces macropolluants. Les 3 jours échantillonnés ne sont donc vraisemblablement pas représentatifs du fonctionnement général de la STEP en raison d'un probable problème technique lors de la campagne de prélèvement. De plus amples campagnes sont donc nécessaires afin de caractériser la STEP Louis Fargue sous cette configuration.

Tableau 64. Azote total et phosphore total mesurés dans les effluents de Louis Fargue lors de la campagne d'échantillonnage de mai 2012. Mesures d'autosurveillance de la STEP, effectuées par l'exploitant.

	entrée		sortie	
	azote total mg.L^{-1}	phosphore total mg.L^{-1}	azote total mg.L^{-1}	phosphore total mg.L^{-1}
28/05/2012	40,0	4,4	18,0	2,7
29/05/2012	44,3	4,5	41,4	4,7
30/05/2012	44,3	4,8	43,0	4,8
moyenne mai	36,0	3,7	21,4	2,4

Le méprobamate, ayant eu son autorisation de mise sur le marché suspendue en janvier 2012, présente des concentrations en entrée de STEP 5 fois plus faibles en mai 2012 que l'année précédente. Ces concentrations représentent tout de même une contribution en entrée de STEP de $5 \text{ mg.an}^{-1}.\text{hab}^{-1}$ connecté, traduisant une poursuite de son usage malgré l'arrêt de la commercialisation ou un relargage à partir de stocks dans le réseau. Il serait intéressant de suivre l'évolution des concentrations en méprobamate et en médicament utilisé pour sa substitution, comme les benzodiazépines (Lebert *et al.*, 2012).

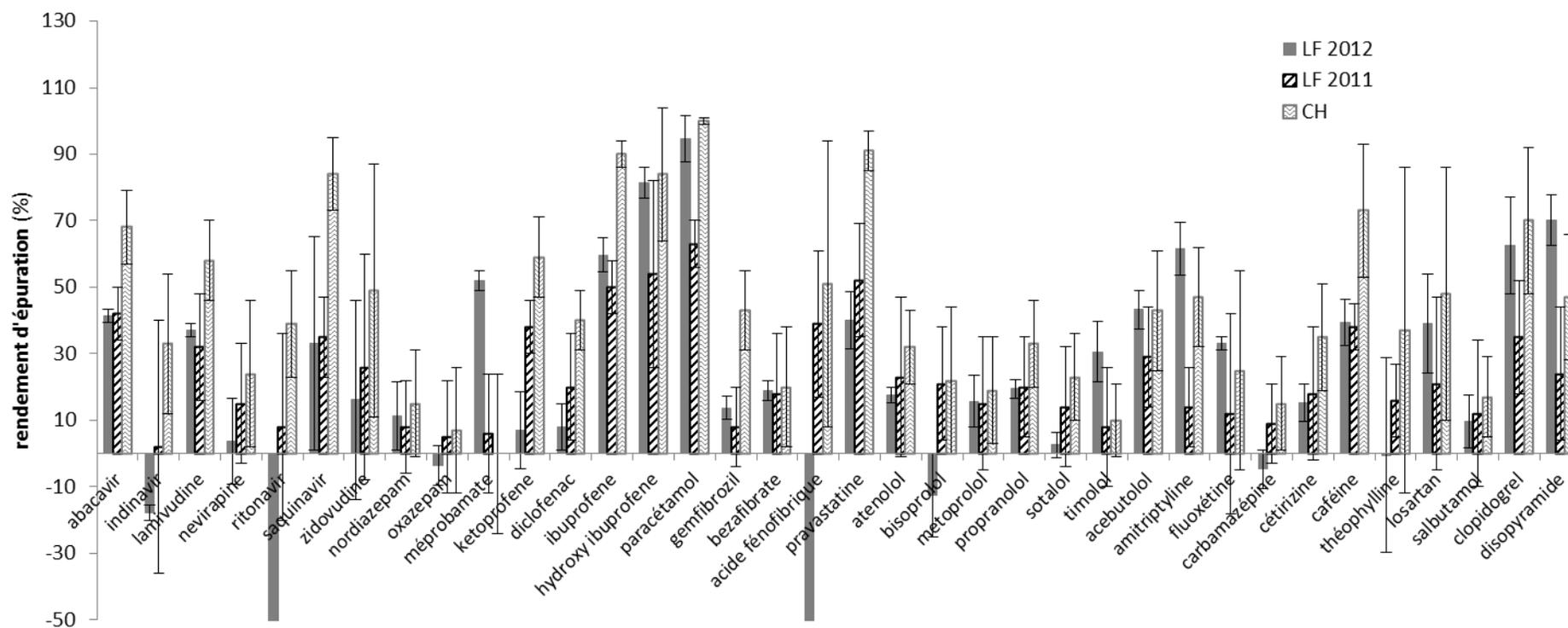


Figure 109. Rendements d'épuration moyens à la STEP LF avant et après réhabilitation et à la STEP CH. Seules les molécules présentant des rendements calculables sur les 3 jours de mai 2012 ont été incluses. Ritonavir et acide fénofibrique prennent les valeurs de -185 et -700, respectivement.

1.4 Variabilités des concentrations en STEP

1.4.1 Variabilités intra-journalières

La STEP Clos de Hilde a fait l'objet d'un échantillonnage spécifique en entrée et en sortie toutes les heures entre 8h15 et 16h15 le 29/06/2010. L'étude a été ciblée sur 11 médicaments parmi la liste à 53 molécules.

La Figure 110 synthétise les variabilités observées par une analyse en composantes principales. L'axe principal explique plus de 60 % de la variabilité, les molécules contribuant toutes dans le même sens à la définition de l'axe. Sur le plan des individus, l'axe 1 oppose les entrées aux sorties par le sens des variables. Sur les entrées, on constate les plus fortes valeurs entre 10h15 et 14h15, avec un maximum à 12h15. En sortie, on observe un groupe de valeurs faibles de 8h15 à 13h15 et un groupe de valeur relativement plus concentrées plus tardivement.

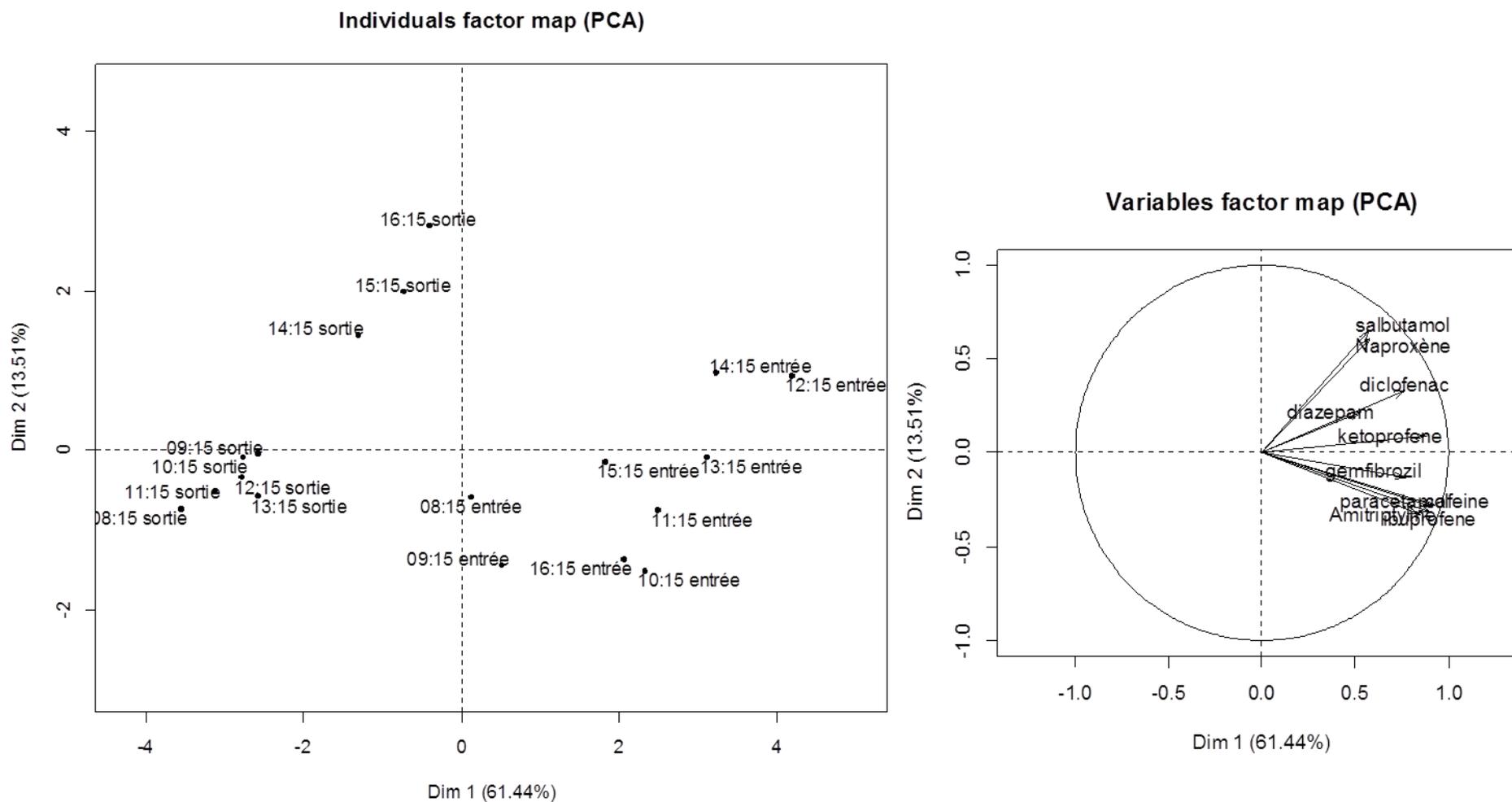


Figure 110. ACP des 11 molécules suivies lors de l'étude des variabilités intra-journalières horaires.

Ces résultats sont à mettre en relation avec les débits d'entrée en STEP (Figure 111), qui augmentent sensiblement à partir de 10 h et atteignent un maximum entre 12h et 13h.

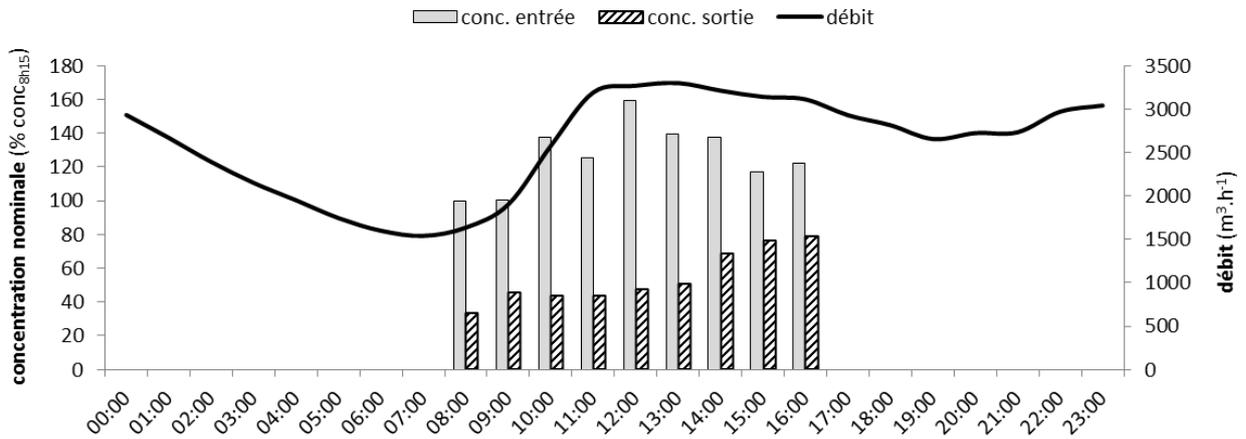


Figure 111. Débit d'entrée caractéristique de temps sec à Clos de Hilde et concentrations nominales moyennes des 11 analytes en entrée et sortie de STEP entre 8h15 et 16h15. La concentration est exprimée en pourcentage de la concentration mesurée en entrée à 8h15. Débits : données Lyonnaise des Eaux.

L'augmentation en sortie de STEP Clos de Hilde est observée avec un décalage imputable aux temps de séjour dans la station. L'examen des concentrations en diclofénac (Figure 112) indique un temps de séjour approximatif de 3 h dans la STEP. Ce dernier ne fait pas l'objet d'un suivi enregistré par l'exploitant mais il peut être évalué d'après les courbes de débit et le volume des ouvrages en service : ce calcul donne un temps de séjour approximatif de 2,9 h dans des conditions similaires à celles du 29 juin 2010 à 12 h.

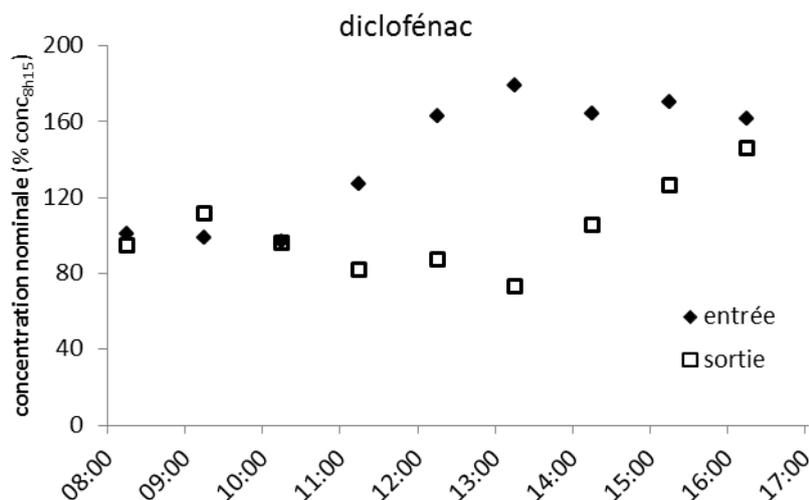


Figure 112. Concentrations en diclofénac en entrée et sortie de STEP Clos de Hilde entre 8h15 et 16h15. La concentration est exprimée en pourcentage de la concentration mesurée en entrée à 8h15.

Des résultats similaires ont été obtenus dans l'étude de Teerlink *et al.* (2012), où les concentrations en différents pharmaceutiques (incluant aténolol et ibuprofène) ont montré une corrélation linéaire avec le débit, les concentrations maximales étant également atteintes pour les débits maximaux. Dans cette étude, un facteur de 3 a été obtenu pour l'aténolol entre les concentrations minimales nocturnes et maximales en fin de matinée. Par ailleurs, l'influence de la taille du bassin de collecte a été examinée : les variations de concentrations sont progressives dans le plus grand bassin de collecte (125 000 EH) mais plus aléatoires dans les deux petits réseaux de collecte à l'étude (400 et 32 EH). L'étude de Salgado *et al.* (2011) attribue la dépendance de la variabilité intra-journalière à la spécificité de consommation de chaque molécule : aténolol, administré en une unique prise journalière, affiche les variations intra-journalières les plus fortes alors que les musks composant les cosmétiques sont utilisés tout au long de la journée en routine et affichent de plus faibles variations. Dans le cas d'antibiotiques (Coutu *et al.*, 2013), un second pic de flux a été observé en soirée, environ 12 h après le premier pic associé à l'augmentation matinale des débits. Une bonne connaissance de la consommation des molécules à l'étude ainsi que du réseau de collecte étudié sont donc nécessaires pour appréhender les variations intra-journalières des concentrations en entrée de STEP.

Pour mettre en évidence des variations à très court terme, la STEP Clos de Hilde a également fait l'objet d'un échantillonnage spécifique toutes les 10 min entre 8h30 et 9h20 et entre 12h00 et 12h50 le 22/06/2010 sur les mêmes molécules que précédemment.

La variabilité observée est présentée dans le Tableau 65. La majorité des écarts-types relatifs est inférieure à 20 %. Les RSD élevés (nordiazépam, amitriptyline, kétoprofène), sont dus à une valeur hors gamme, sans tendance particulière.

Tableau 65. Ecart-types relatifs observés sur les prélèvements intra-journaliers à haute fréquence. Le diazépam est mesuré en limite de quantification et est donc affecté d'une plus forte variabilité analytique. n=6.

Analyte	écart-type relatif (%)			
	entrée		sortie	
	matin	midi	matin	midi
caféine	6	11	11	21
diazépam	15	51	27	20
nordiazépam	17	17	99	49
amitriptyline	14	18	6	79
ibuprofène	11	16	20	18
paracétamol	12	12	20	43
kétoprofène	13	55	12	48
naproxène	22	15	8	23
diclofénac	7	14	3	7
gemfibrozil	56	25	10	20
salbutamol	15	12	4	22

Cette faible variation des concentrations à faible pas de temps suggère une évolution progressive des concentrations en analyte aux sources, leur émission pouvant de surcroit être moyennée par la longueur du réseau de collecte et le temps de transport qu'il impose. Bien qu'étudiant l'évolution des concentrations à un pas de temps horaire, Teerlink *et al.* (2012) ont mis en évidence l'influence de la

taille du bassin de collecte sur le lissage des évolutions de concentration en entrée de STEP. Certains analytes sont pourtant émis par apports brefs et intenses : Ort *et al.* (2010b) ont mis en évidence des variations de concentrations à l'échelle de la minute de -100 % à +2300 % de la concentration moyenne en gadolinium (agent de contraste pour IRM) sur une période totale de 4 h, son excrétion rapide sous forme inchangée après son administration peu fréquente et uniquement en milieu hospitalier étant évoquée pour expliquer de telles variations.

Concernant les concentrations, une augmentation d'un facteur moyen de 2,2 entre les eaux du matin et celles de midi est observée en entrée pour l'ensemble des molécules suivies, tandis qu'en sortie les niveaux de concentrations sont équivalents, ce qui est en accord avec les mesures précédentes indiquant une augmentation des concentrations de l'effluent de sortie vers 14 h, donc après la fin du suivi. L'augmentation de débit en entrée, proche de 2, associée à l'augmentation des concentrations d'un facteur 2,2, correspond à une augmentation du flux d'entrée d'un facteur approximatif de 4 entre la fin de nuit et la mi-journée, résultat en accord avec les données de la littérature préalablement examinées. Il en ressort que la forte variabilité intra-journalière justifie la nécessité d'un échantillonnage moyenné 24 h pour des études à l'échelle inter-journalière.

1.4.2 Variabilités inter-journalières

Les campagnes ayant été menées sur 3 jours consécutifs, la variabilité inter-journalière a été déterminée par le calcul de l'écart-type relatif associé à ces 3 prélèvements (Figure 113). Les molécules les moins concentrées (à droite sur la figure) sont quantifiées à des valeurs proches des LQ et sont donc affectées d'une plus grande variabilité analytique. Sur les 48 molécules quantifiées, 26 présentent un écart-type relatif inférieur à 20 % en entrée comme en sortie. Les seules valeurs supérieures à 50 %, relevées pour l'hydroxy-ibuprofène (entrée), l'acide 4-chlorobenzoïque (entrée) et l'atorvastatine (entrée et sortie), résultent de leur variabilité analytique en l'absence d'étalon interne adapté et non de la variabilité inter-journalière. On n'observe pas de différence entre les deux STEP. Il en ressort que les variabilités sont faibles sur trois jours secs consécutifs pour les deux STEP en entrée comme en sortie.

Ort *et al.* (2010a) ont également observé de faibles variations inter-journalières sur une sélection de médicaments incluant aténolol, paracétamol, gabapentine (antiépileptique) et triméthoprime (antibiotique). Les antibiotiques (Coutu *et al.*, 2013) et les tensioactifs (Camacho-Muñoz *et al.*, 2014) sont d'autres classes de molécules pour lesquelles de faibles variations ont été mesurées sur plusieurs jours consécutifs. En revanche, Salgado *et al.* (2011) ont constaté des variations d'un jour à l'autre dans la distribution intra-journalière des maximums de concentration en médicaments, résultant sur des concentrations journalières moyennes pouvant varier d'un facteur 3. Les auteurs de cette étude, qui inclut certains analytes communs au suivi des STEP bordelaises (diclofénac, ibuprofène, kétoprofène, aténolol et fluoxétine), attribuent ces variations à l'usage discontinu des médicaments, ces variations n'étant pas observées pour des molécules d'usage continu comme les musks composant les cosmétiques, également mesurés dans l'étude.

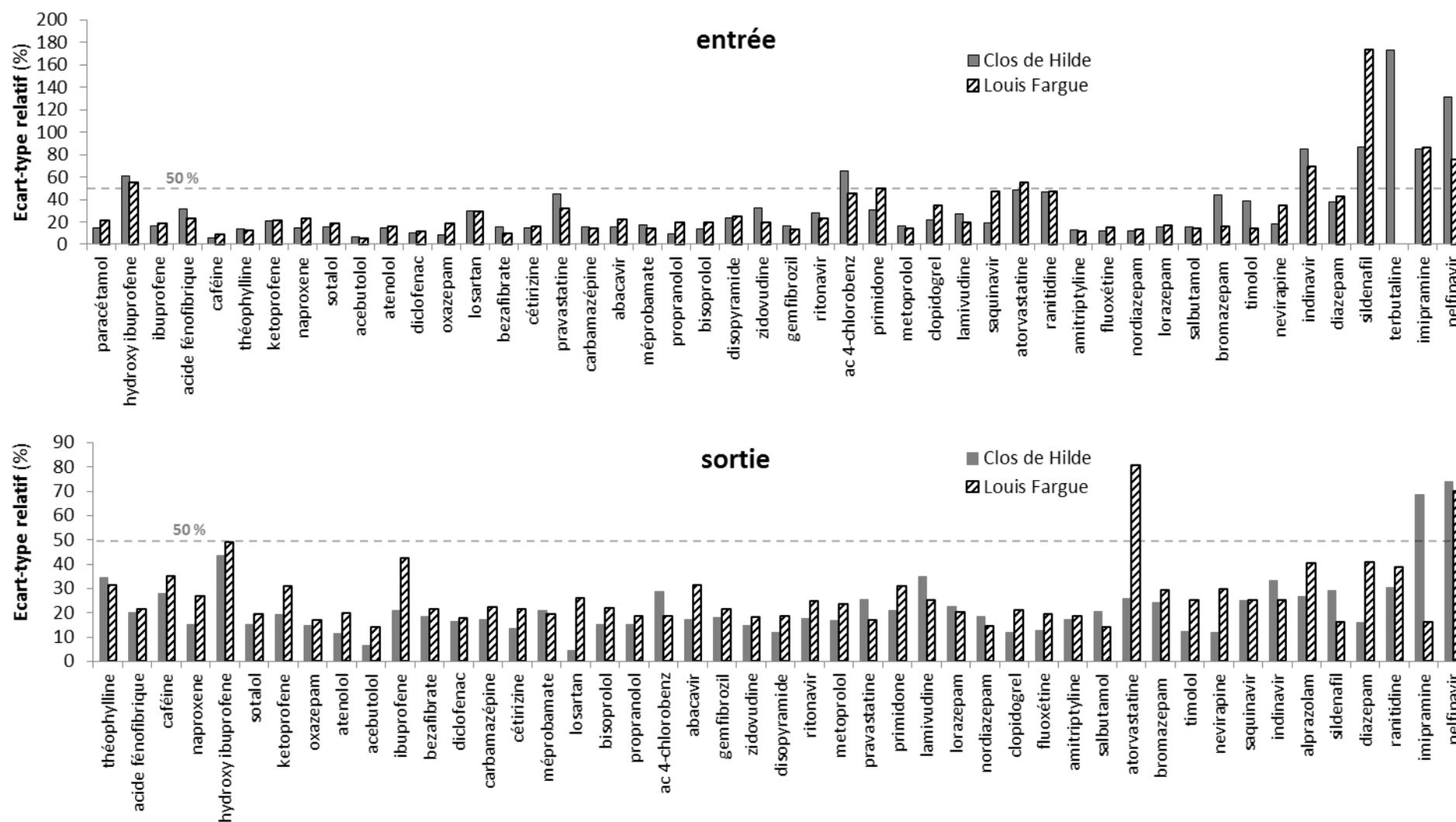


Figure 113. Moyenne des écarts-types relatifs calculés sur les 3 j consécutifs pour les mois de temps sec de mars, mai, octobre et novembre 2011 en entrée et sortie traitée biologique des STEP Clos de Hilde et Louis Fargue. Les molécules sont rangées par concentration décroissante dans l'effluent d'entrée, respectivement de sortie. n=3.

1.4.3 Variabilités au cours de l'année

L'écart-type relatif inter-mensuel, calculé comme le coefficient de variation des flux moyens mensuels, est donné en entrée de STEP pour l'intégralité des molécules détectées (Figure 114). Celui-ci est inférieur à 50 % pour 30 à 33 molécules.

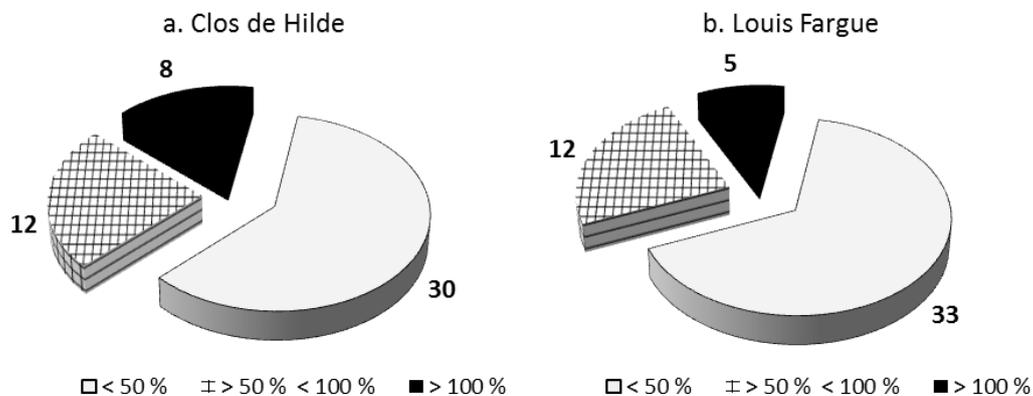


Figure 114. Répartition des molécules en fonction de leur écart-type relatif inter-mensuel en entrée (calculé sur les flux). n=11.

Dans l'impossibilité de montrer les comportements détaillés de toutes les molécules, trois traceurs ont été choisis à titre d'exemple : la carbamazépine, l'abacavir et l'ibuprofène (Figure 115). L'évolution annuelle des flux associés aux autres molécules est donnée en Annexe 14.

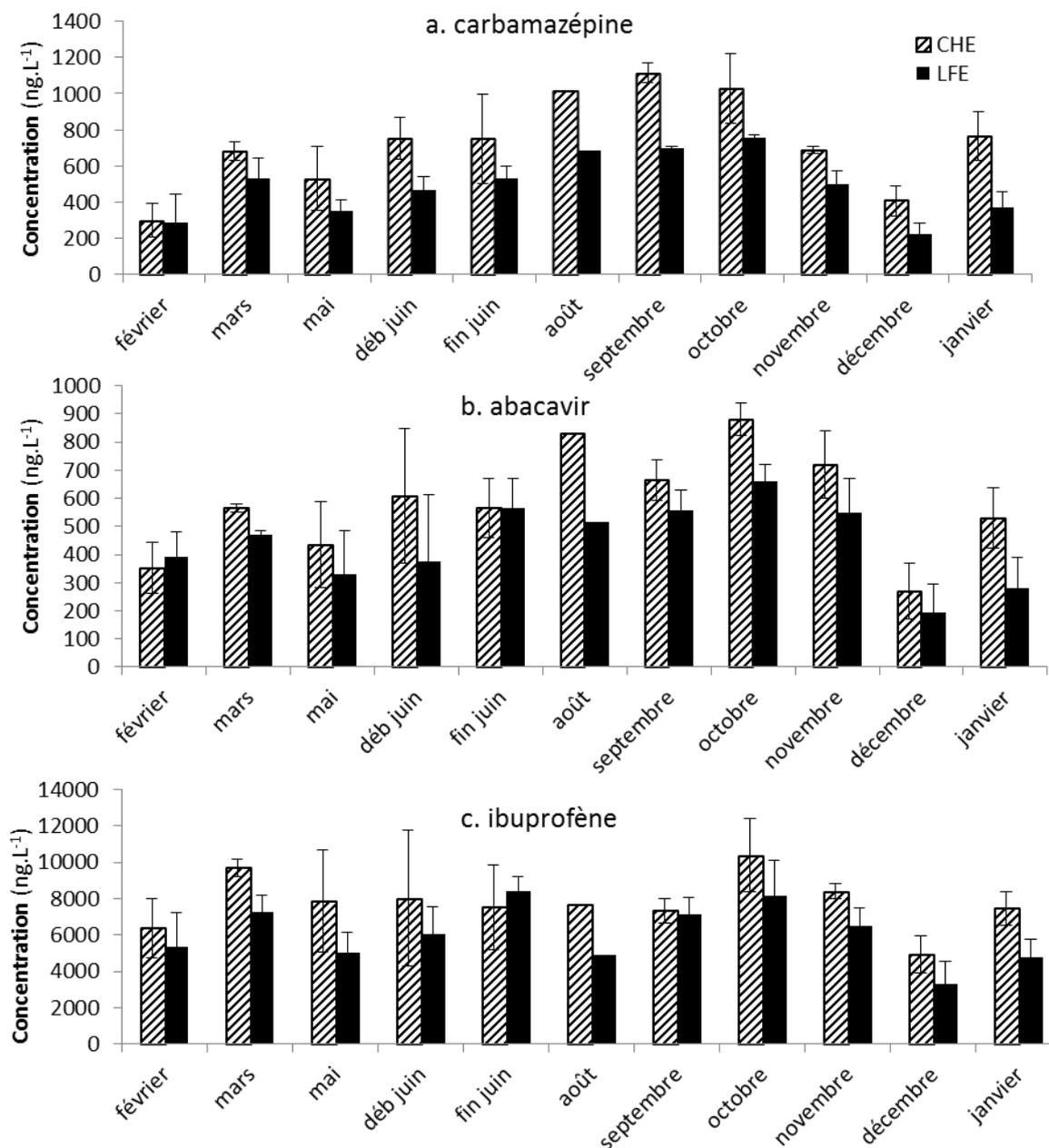


Figure 115. Concentrations moyennes mesurées en entrée en carbamazépine, abacavir et ibuprofène sur les 11 campagnes. n=3.

Le test statistique de Kruskal-Wallis indique qu'il existe une influence significative du mois sur les concentrations en carbamazépine et abacavir à Clos de Hilde et Louis Fargue ainsi qu'en ibuprofène à Louis Fargue (p -values < 5 %). Les maximums se retrouvent en août, septembre et octobre et les minimums en décembre. Les minimums du mois de décembre peuvent être attribués à la forte pluviométrie et les maximums de la fin de l'été à la plus faible dilution par les eaux claires. Lorsque l'on raisonne en flux, les différences sont gommées et seul l'abacavir à Clos de Hilde et la carbamazépine aux deux STEP présentent des variations dépendantes du mois de prélèvement (test de Kruskal-Wallis) (Figure 116).

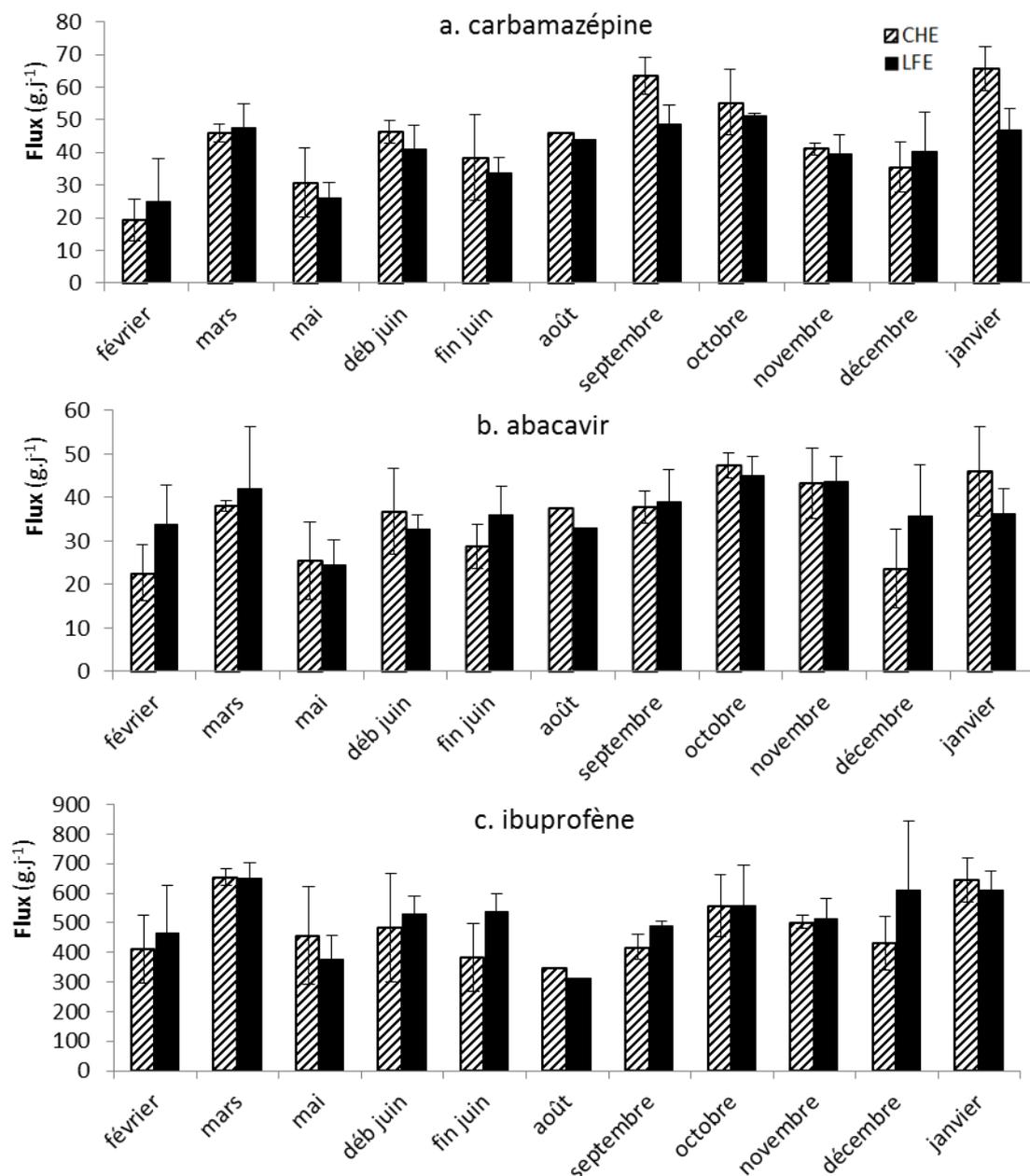


Figure 116. Flux moyens en entrée en carbamazépine, abacavir et ibuprofène sur les 11 campagnes. n=3.

En sortie, en considérant l'intégralité des molécules (Figure 117), on obtient des écarts-types relatifs calculés sur les flux déversés en Garonne inférieurs à 50 % pour 28 à 33 molécules, soit une variabilité faible équivalente à celle observée en entrée.

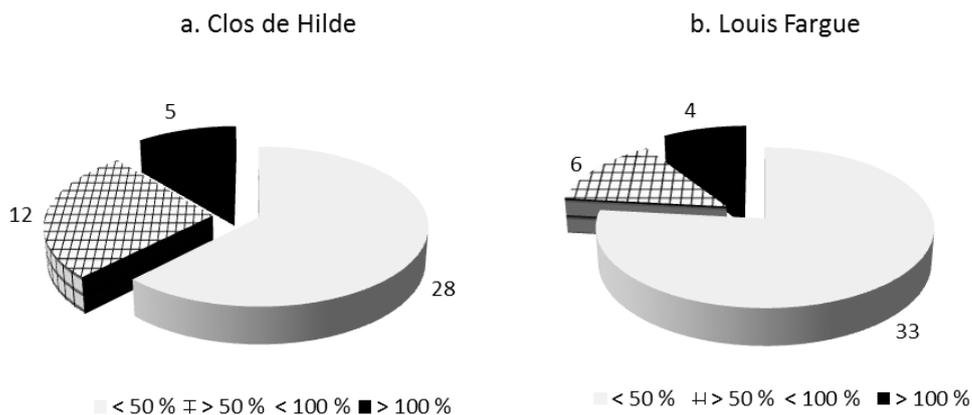


Figure 117. Répartition des molécules en fonction de leur écart-type relatif inter-mensuel en sortie (calculé sur les flux). n=11.

Pour les composés suivants, carbamazépine, abacavir et ibuprofène, les concentrations en sortie générale sont présentées en fonction du temps à Clos de Hilde et Louis Fargue (Figure 118). Le test statistique de Kruskal-Wallis indique une influence significative (au seuil de 5 %) du mois sur les concentrations (à l'exception de l'ibuprofène et de l'abacavir en sortie de Clos de Hilde). Il existe donc une dépendance des concentrations en fonction du mois échantillonné pour ces analytes. Le profil de la carbamazépine est identique à celui observé en entrée de STEP : les variations observées en entrée de STEP se répercutent sur les concentrations mesurées en sortie.

L'examen des flux des traceurs par le test de Kruskal-Wallis montre une dépendance du flux en fonction du mois pour l'abacavir et la carbamazépine mais pas pour l'ibuprofène en sortie générale de Clos de Hilde (Figure 119). La saisonnalité des flux d'analytes n'est donc pas systématique, lorsqu'elle existe, elle est inférieure à 50 % pour une majorité de composés de la liste étudiée (Figure 117).

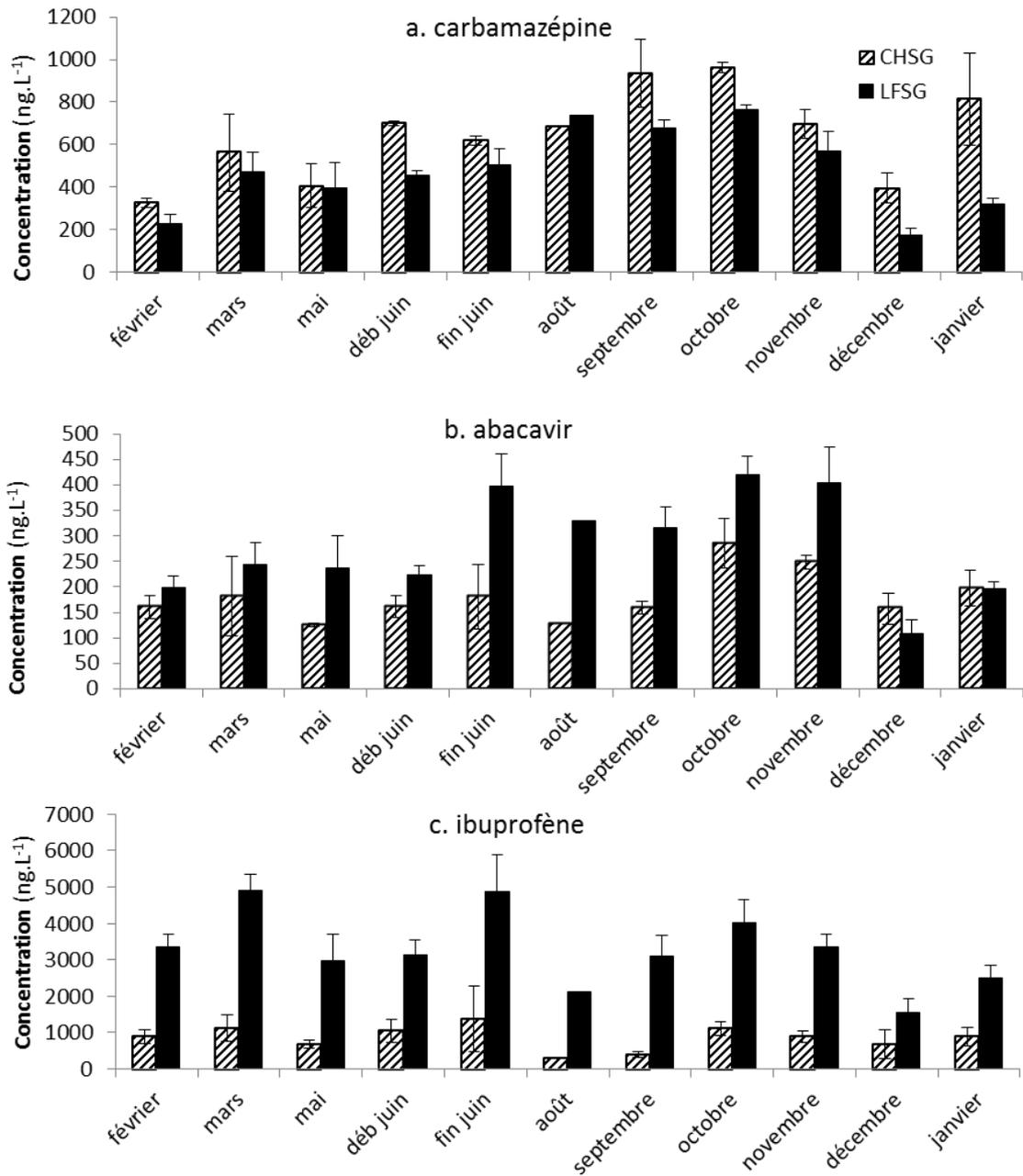


Figure 118. Concentrations moyennes mesurées en sortie générale en carbamazépine, abacavir et ibuprofène sur les 11 campagnes. n=3.

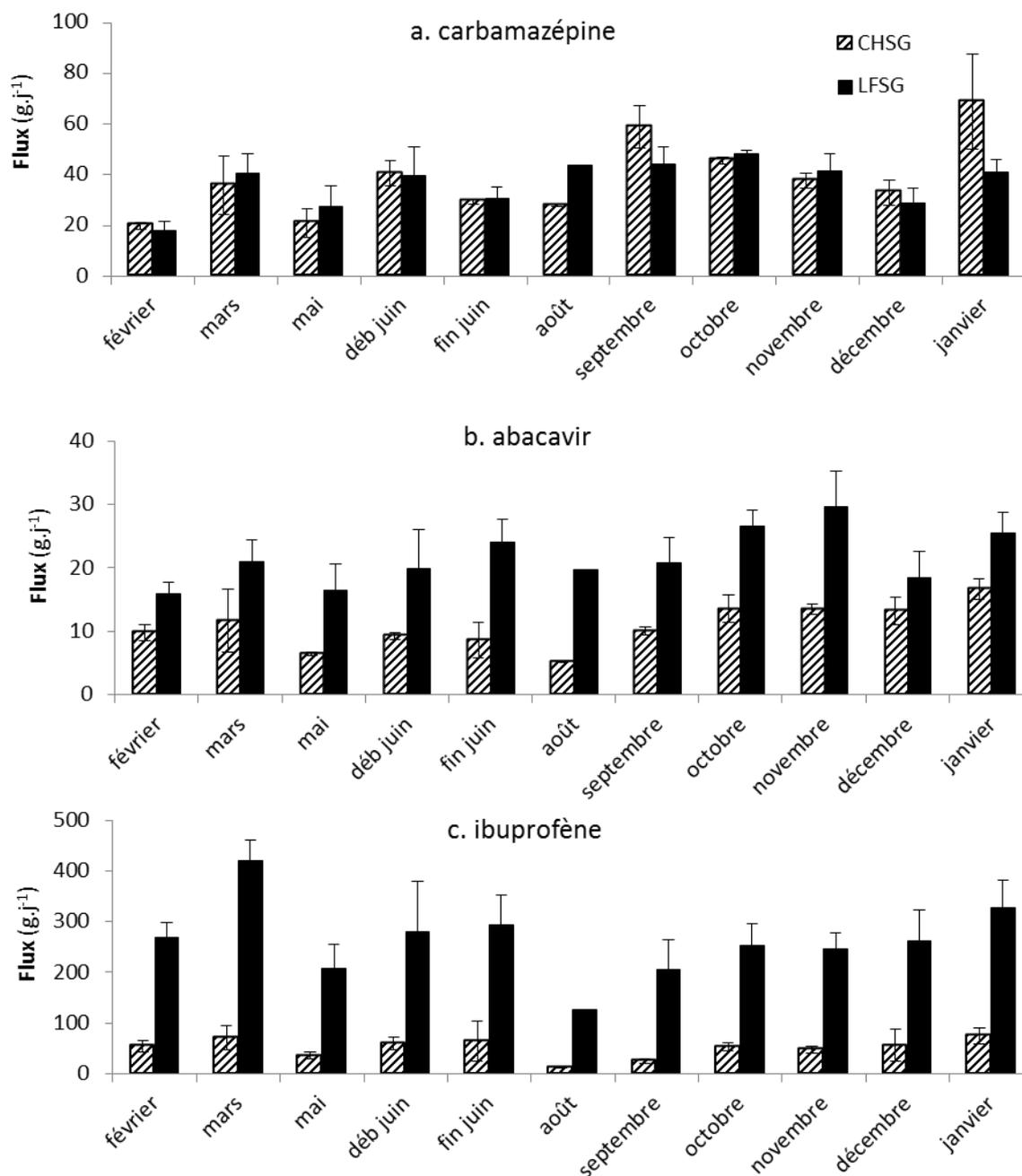


Figure 119. Flux moyens en sortie générale en carbamazépine, abacavir et ibuprofène sur les 11 campagnes. n=3.

La variabilité des flux en entrée et en sortie de STEP est donc faible en fonction de la période de l'année. Les variations des compositions des effluents d'entrée et de sortie ne démontrent pas de variation des rendements d'épuration en fonction de la période de l'année, les variations de sortie étant expliquées par les variations des entrées.

Les variations inter-mensuelles des concentrations en cinq médicaments ont été étudiées en entrée et en sortie des quatre principales STEP de Séville (Santos *et al.*, 2009). Aucune saisonnalité à

l'échelle d'une année de suivi n'a été mise en évidence pour les cinq analytes dans l'effluent de sortie ni pour la carbamazépine, le kétoprofène et le naproxène dans l'effluent d'entrée tandis que la concentration en caféine dans l'effluent d'entrée moyen a doublé entre l'été et l'hiver et la concentration en ibuprofène y a augmenté sensiblement entre la fin du printemps et la fin de l'été. Castiglioni *et al.* (2006) ont également observé une augmentation hivernale d'un facteur 6 des apports en ibuprofène en entrée de STEP quand aténolol, furosémide, ranitidine et hydrochlorothiazide ont des apports saisonniers comparables. Du *et al.* (2014) ont étudié les concentrations des effluents d'entrée en octobre et en janvier et n'ont pas observé de différence saisonnière pour la majorité des 18 médicaments détectés, seuls diclofénac, aténolol, méthylphénidate et diphenhydramine étaient significativement plus concentrés à l'automne quand diltiazem et codéine étaient sensiblement supérieurs en hiver. En Finlande, Vieno *et al.* (2005) ont rapporté une augmentation hivernale des concentrations des effluents de sortie pour le bézafibrate et une sélection d'anti-inflammatoires alors que la composition de l'effluent d'entrée était relativement invariable. La température des eaux, de l'ordre de 7 °C en hiver (contre ≈ 14 °C l'hiver dans les effluents urbains de Bordeaux), est évoquée pour expliquer la diminution hivernale des performances d'épuration de la STEP.

Dans le cas des antibiotiques, des variations saisonnières significatives ont été observées avec des apports hivernaux supérieurs (Castiglioni *et al.*, 2006 ; Coutu *et al.*, 2013), allant jusqu'à un facteur 4 dans le cas de la ciprofloxacine (Coutu *et al.*, 2013). La saisonnalité des pathologies et des prescriptions associées est avancée pour expliquer ces variations.

La saisonnalité des concentrations en médicaments dans les effluents urbains varie dans la littérature, parfois de manière contradictoire (cas de l'aténolol aux variations saisonnières dans Du *et al.* (2014) et invariable dans Castiglioni *et al.* (2006)). Il est donc probable que la saisonnalité dépende des usages des molécules examinées et de la typologie des réseaux urbains.

Les usages thérapeutiques des molécules sélectionnées dans l'étude des effluents urbains bordelais, *a priori* non saisonniers, sont en accord avec les faibles variations observées dans les effluents d'entrée des STEP. L'examen de données de consommation saisonnière, si elles existent, permettrait de valider cette hypothèse.

1.4.4 Variations liées aux précipitations

Les prélèvements de décembre 2011 et janvier 2012 permettent d'étudier l'impact d'une pluviométrie forte sur les effluents de STEP. Ainsi, pour chaque molécule mesurée à plus de 10 fois sa LQ dans les échantillons, la concentration moyenne d'octobre et de novembre a été rapportée à la concentration mesurée pour ces deux mois de pluie, en entrée et en sortie de STEP (Figure 120, cas a). Le rapport obtenu, supérieur à 1, correspond au taux de dilution des analytes entre un temps sec et un temps de pluie.

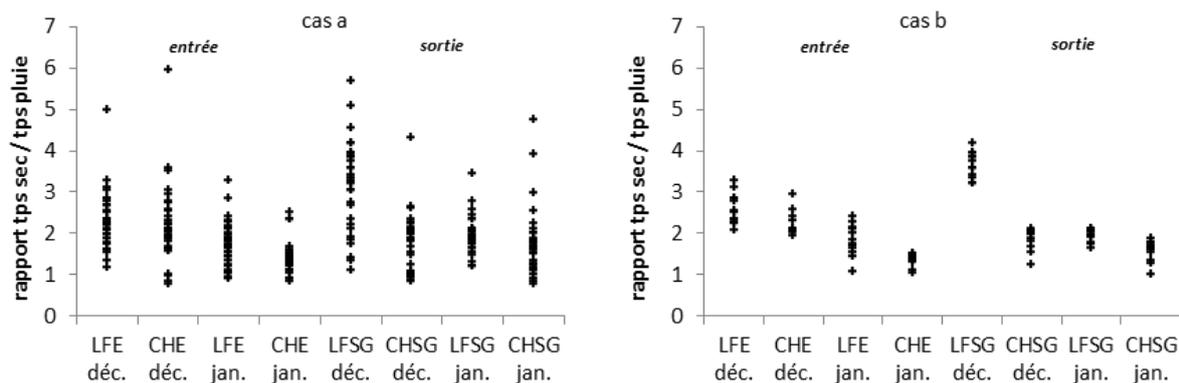


Figure 120. Rapports de concentration par temps sec (moyenne d'octobre et novembre 11) sur concentration par temps de pluie (décembre 11 ou janvier 12). Dans le cas a, les 34 molécules détectées à plus de 10 fois leur LQ sont présentées, dans le cas b, seules les molécules sélectionnées par la classification hiérarchique ascendante de la Figure 121 sont données.

Les rapports de concentration varient jusqu'à un facteur 5 entre molécules. Si la pluie provoquait une simple dilution des effluents urbains, toutes les molécules auraient un rapport de concentration similaire, assimilable au taux de dilution des effluents. Puisque la consommation et donc l'émission de médicament est indépendante de la pluviométrie, la différence de comportement observée entre les analytes est attribuée à des phénomènes se déroulant entre les sources et l'entrée de la STEP, lors du transport dans le réseau. Ainsi, l'étude de Del Río *et al.* (2013) suggère que les médicaments sont piégés par les matières déposées dans les collecteurs par adsorption, dans les biofilms et dans l'eau interstitielle les composant et pourraient, lors des épisodes pluvieux, être relargués dans le système. Les variations observées en entrée de Clos de Hilde et Louis Fargue pourraient ainsi être expliquées par les différences d'affinité pour la phase solide propre à chaque analyte. Gromaire *et al.* (2001) ont également expliqué la différence de spéciation observée sur les métaux lourds le long des collecteurs par leur piégeage dans les sédiments des collecteurs. Ort et Gujer (2008) ont étudié le biofilm formé à la surface des réseaux et observé que celui-ci piégeait les analytes les plus hydrophobes. Les auteurs précisent que les événements pluvieux peuvent provoquer l'érosion partielle de ce biofilm et donc entraîner l'augmentation des apports des micropolluants organiques y étant séquestrés.

Par ailleurs, l'essentiel des références bibliographiques à ce sujet étudie le piégeage des micropolluants organiques dans les réseaux et non leur altération ; or l'action du réseau sur la déconjugaison des médicaments glucuronidés a été montrée dans le chapitre 3.1, section 1.6. Une diminution des temps de transit due au débit pluvial additionnel pourrait modifier l'avancement de la réaction de déconjugaison ainsi que d'éventuelles autres dégradations biologiques, modifiant de ce fait la composition moléculaire des effluents. Des études complémentaires sont nécessaires afin d'appréhender la réactivité des molécules en amont de la STEP.

Afin de travailler à une échelle plus globale minimisant les comportements moléculaires individuels, un nombre limité de molécules a été choisi. La conservativité de la carbamazépine et de l'oxazépam ayant été préalablement identifiée (étude des rendements d'épuration, section 1.3.2 de ce chapitre),

les médicaments aux mêmes « comportements » que ces deux analytes ont été sélectionnés à l'aide d'une classification hiérarchique ascendante (Figure 121). L'évaluation des « comportements » est basée sur les rapports de concentration temps sec sur temps de pluie des molécules détectées dans tous les échantillons au-delà de 10 fois leur LQ, soit l'ensemble des valeurs individuelles présentées Figure 120, cas a. La distance est choisie euclidienne et l'agrégation est faite par la méthode de Ward.

Les 12 molécules les plus proches d'oxazépam et carbamazépine, situées sous l'embranchement matérialisé par la flèche, forment cette sélection et présentent une variabilité des rapports de concentration inférieure à 20 %. Leurs rapports de concentration temps sec sur temps de pluie sont donnés à titre d'exemple Figure 120, cas b.

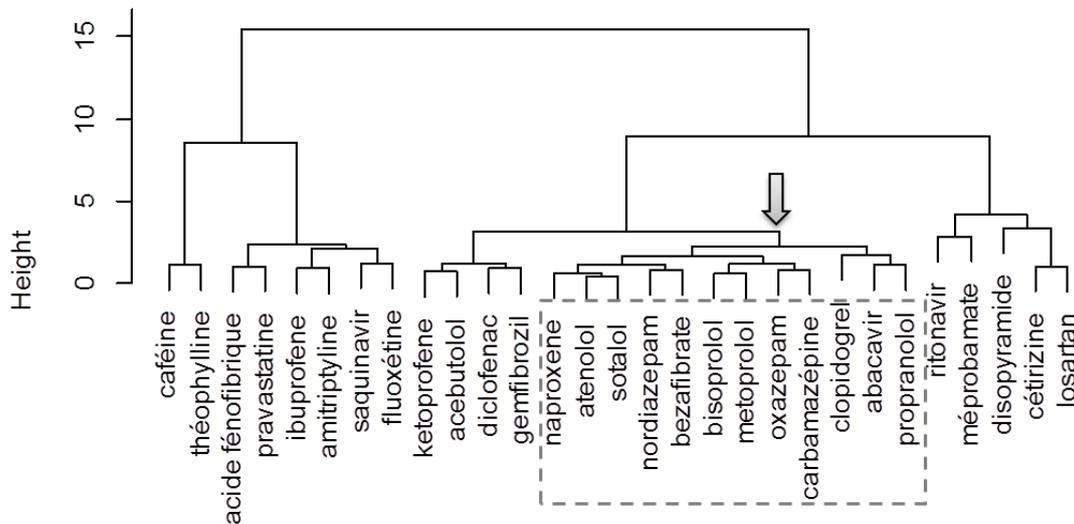


Figure 121. Classification hiérarchique ascendante des molécules selon leurs rapports de concentration temps sec sur temps de pluie. Seules les molécules détectées dans tous les échantillons au-delà de 10 fois leur LQ ont été représentées. La distance est choisie euclidienne et l'agrégation est faite par la méthode de Ward.

Pour les entrée et sortie des deux STEP, les rapports moyens de concentration temps sec sur temps de pluie de ces 12 molécules sont comparés aux facteurs d'augmentation des débits due à la pluie (Figure 122). En entrée comme en sortie, la pluviométrie est responsable d'une dilution allant de 1,4 (CHE janvier) à 3,7 (LFSG décembre) des effluents par rapport au temps sec. A l'exception de CHE et de LFSG en décembre, les augmentations de débit expliquent les concentrations observées aux écarts-types près. Les effluents d'entrée de Louis Fargue sont plus dilués qu'à Clos de Hilde en raison du pourcentage de réseau unitaire supérieur entraînant un apport d'eau pluviale plus élevé.

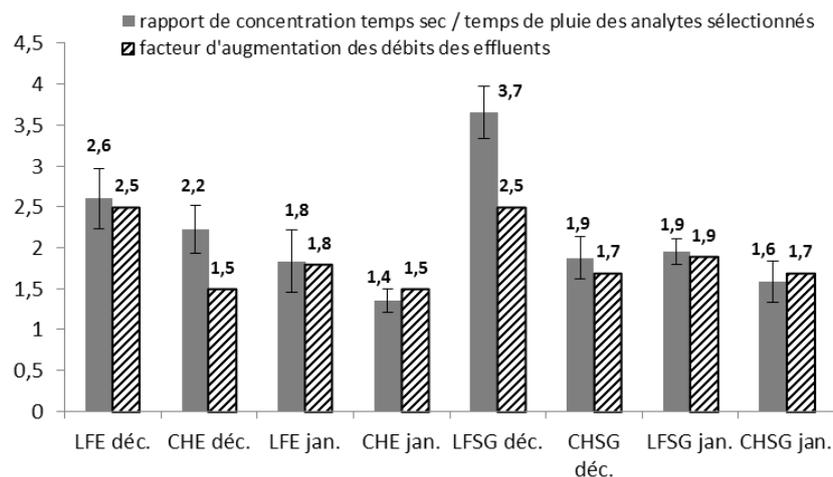


Figure 122. Comparaison des rapports de concentration moyens temps sec sur temps de pluie aux facteurs d'augmentation du débit des effluents de STEP considérés.

Ainsi, pour les traceurs sélectionnés, si la dilution des effluents par temps de pluie engendre une diminution des concentrations, l'augmentation des débits dans les mêmes proportions implique une relative invariabilité des flux d'entrée et de sortie de STEP. Cela démontre une faible variabilité des rendements d'épuration par temps de pluie par rapport à un temps sec : le fonctionnement global de la STEP vis-à-vis des molécules considérées est donc peu affecté par ces conditions pluviométriques usuelles. Goodson *et al.* (2012) ont également observé des variations de flux d'entrée et de sortie en phase lors de fortes pluies et concluent à l'absence d'incidence des temps de pluie sur les performances de traitement en STEP.

Lors d'événements pluvieux intenses, comme lors de l'échantillonnage de décembre, les capacités de traitement des stations d'épuration sont dépassées et une partie de l'effluent brut est déversée en Garonne par les déversoirs d'orage (DO) situés en amont des STEP. La proportion des volumes d'effluents bruts totaux déversés en Garonne lors de la campagne de décembre atteint 18 % sur le bassin de collecte de Clos de Hilde et 13 % sur celui de Louis Fargue (calcul basé sur les données d'autosurveillance de l'exploitant). L'apport calculé des deux STEP cumulées et des déversoirs d'orage de leur bassin de collecte est donné Figure 123. La contribution des déversoirs d'orage dépasse 50 % du flux total pour 5 molécules (paracétamol, atorvastatine, ranitidine, pravastatine et ibuprofène) dont 99 % pour le paracétamol, faisant de cette molécule un bon traceur de rejets urbains non traités. L'apport dû aux déversoirs d'orage est relié au rendement d'épuration de telle sorte que l'impact des déversements directs sur le milieu est plus marqué pour les molécules labiles. Les calculs d'apports par déversements direct conduits par Phillips *et al.* (2012), notant que les déversements par DO représentent 10 % du flux annuel transitant dans les réseaux mais contribuent de 40 à 90 % à l'apport total des molécules bien traitées (rendements d'élimination supérieurs à 90 %) sont en accord avec les observations conduites sur les effluents urbains bordelais. Ces événements de rejets directs sont donc à minimiser par l'exploitant, notamment au travers de la gestion dynamique des réseaux anticipant l'impact des pluies et la saturation du réseau.

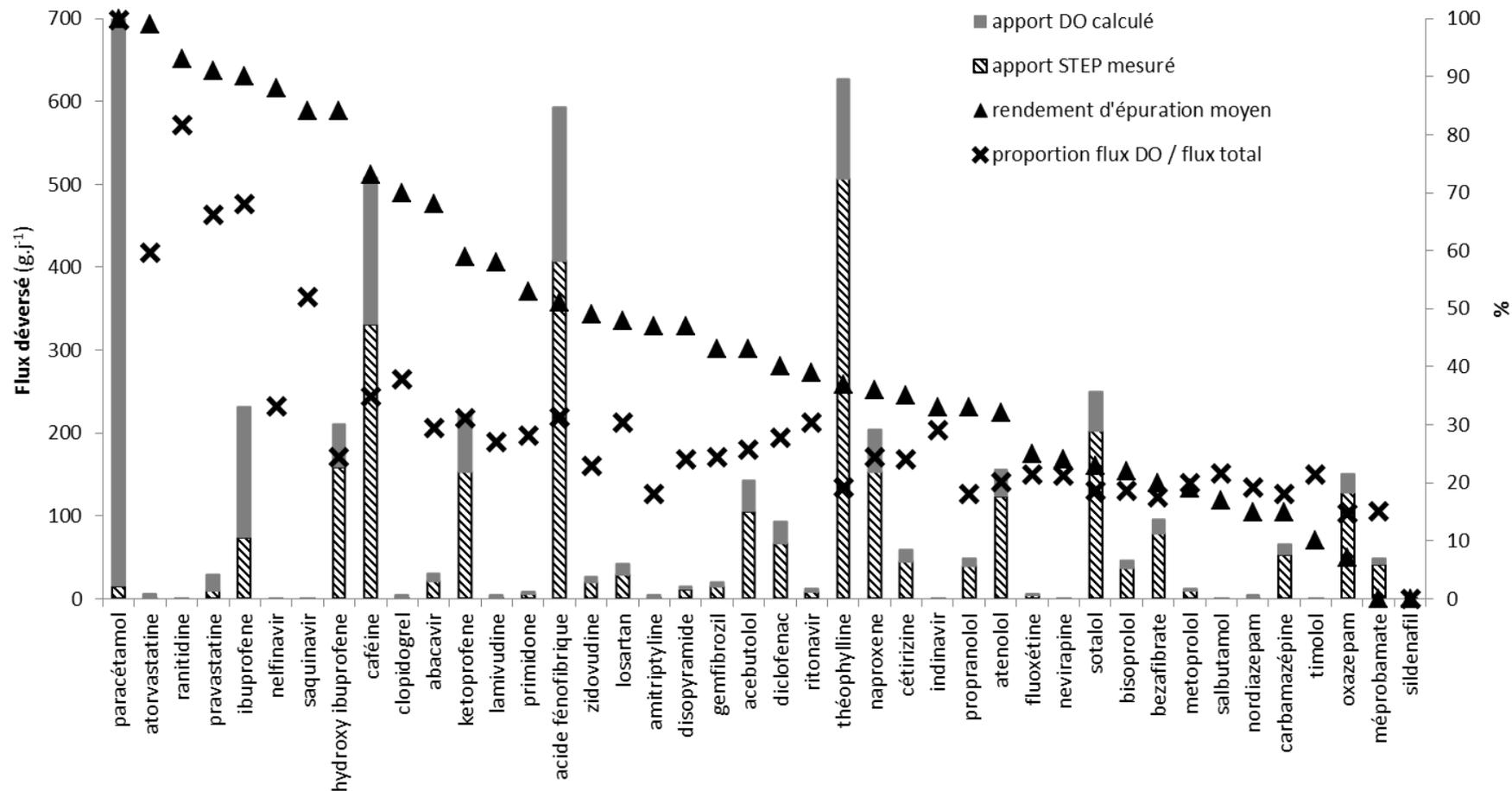


Figure 123. Flux déversés par les STEP (mesurés) et par les déversoirs d'orage du bassin de collecte des STEP par temps de pluie (calculés). Le flux de STEP est celui mesuré en sortie générale des STEP CH et LF lors de la campagne de décembre 2011, l'apport des DO étant calculé par le produit des concentrations mesurées en entrée de STEP lors de cette campagne et des débits déversés par les DO. Les molécules pour lesquelles le rendement d'épuration n'est pas calculable ont été exclues. Le paracétamol, hors échelle, prend la valeur de 4580 g.j⁻¹.

Les événements pluvieux de type orage d'été ont été évalués en prenant comme modèle l'orage du 2 août 2011, où 30 mm de pluie sont tombés en 45 min à approximativement 18 h. Les déversements directs en Garonne cumulés sur la journée ont atteint 70 % du débit total du bassin de collecte de Louis Fargue et 60 % sur celui de Clos de Hilde. Ces déversements ayant eu lieu pendant un temps très court et étant composés essentiellement d'eaux claires parasites météoriques, il n'est pas envisageable pour un calcul d'apport en médicaments à la Garonne d'utiliser ces données ni l'augmentation des débits en entrée de STEP.

En revanche, la comparaison des flux sur des traceurs persistants entre le 1 et le 2 août permet d'évaluer le flux de molécules n'ayant pas atteint la STEP et donc déversé au milieu (Figure 124). On estime ainsi pour la carbamazépine et l'oxazépam que 35 à 38 % du flux du 1 août n'est pas arrivé en entrée de Clos de Hilde le 2 août, donnant de ce fait la proportion d'eaux résiduelles strictes déversées.

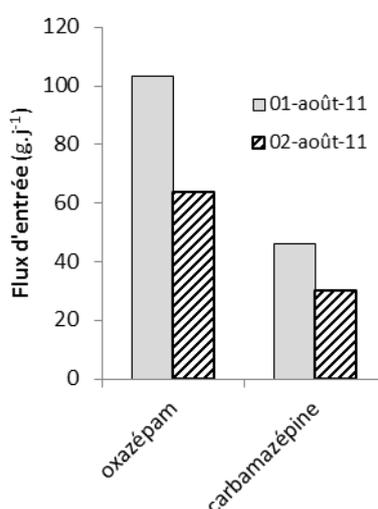


Figure 124. Variation des flux d'entrée entre le 1 et le 2 août 2011 à la STEP Clos de Hilde.

L'étude de cet orage souligne les limites du prélèvement moyenné 24 h pour la compréhension de phénomènes à variabilité horaire, ceux-ci devant idéalement être suivis par prélèvement automatique horaire en bidons individuels.

1.5 Etude des filtres UV dans les effluents

1.5.1 Occurrence et gamme de concentration

Les taux de détection, les niveaux de concentrations moyens et les variabilités rencontrés sur les 6 campagnes de prélèvement ponctuel en STEP Clos de Hilde sont données dans le Tableau 66. Seuls l'avobenzone et l'ODPABA ne sont pas détectés systématiquement.

Tableau 66. Taux de détection relevés sur les 15 échantillons d'eau d'entrée et de sortie de la STEP Clos de Hilde, concentration moyenne et moyenne des écarts-types relatifs observés par campagne (n=6).

Analyte	Taux de détection (%)		Concentration moyenne ng.L ⁻¹		Moyenne pour les 6 campagnes des RSD de chaque campagne %	
	entrée	sortie	entrée	sortie	entrée	sortie
Oxybenzone	100	100	150	100	25	24
Avobenzone	87	73	50	10	66	70
EHMC	100	100	150	20	32	74
ODPABA	13	53	0	2	58	78
4-MBC	100	100	30	20	41	43
Octocrylène	100	100	270	110	32	46

A titre d'exemple, les concentrations relevées en octocrylène dans l'effluent d'entrée, molécule la plus concentrée, équivalent à une contribution approximative de 50 mg.an⁻¹.hab⁻¹.

Les écarts-types relatifs sont plutôt élevés, entre 24 et 78 %, et globalement supérieurs en sortie par rapport à l'entrée. Ces valeurs traduisent une variabilité inter-journalière élevée mais, l'échantillonnage étant ponctuel, elles sont à considérer avec précaution au regard de la variabilité intra-journalière mise en évidence sur les médicaments. Les musks composant les cosmétiques, aux usages proches de ceux des filtres UV, ont montré une bonne répétabilité intra- et inter-journalière dans l'étude de Salgado *et al.* (2011). Les filtres UV n'ont toutefois pas fait l'objet d'études spécifiques de variations inter-journalières dans la littérature.

L'étendue des concentrations en entrée et en sortie est donnée Figure 125. Les concentrations de l'effluent d'entrée sont supérieures à 100 ng.L⁻¹ pour octocrylène, oxybenzone et EHMC, et de l'ordre de la dizaine de nanogramme par litre pour avobenzone et 4-MBC. Les concentrations d'oxybenzone et de 4-MBC sont en accord avec celles mesurées par Gago-Ferrero *et al.* (2013b) en Espagne. Elles sont en revanche approximativement 10 fois inférieures aux concentrations rapportées en Suisse par Balmer *et al.* (2005) pour les 4 composés communs à cette étude (oxybenzone, EHMC, 4-MBC, octocrylène). Liu *et al.* (2012) ont rapporté des concentrations en oxybenzone, 4-MBC, EHMC et octocrylène de 1060, 390, 110 et 90 ng.L⁻¹, respectivement, en entrée d'une STEP australienne. Les abondances relatives des analytes diffèrent des abondances mesurées dans les effluents d'entrée de la STEP Clos de Hilde : oxybenzone y est près de 10 fois plus concentré alors qu'octocrylène l'est 3 fois moins, pouvant traduire des différences d'usage.

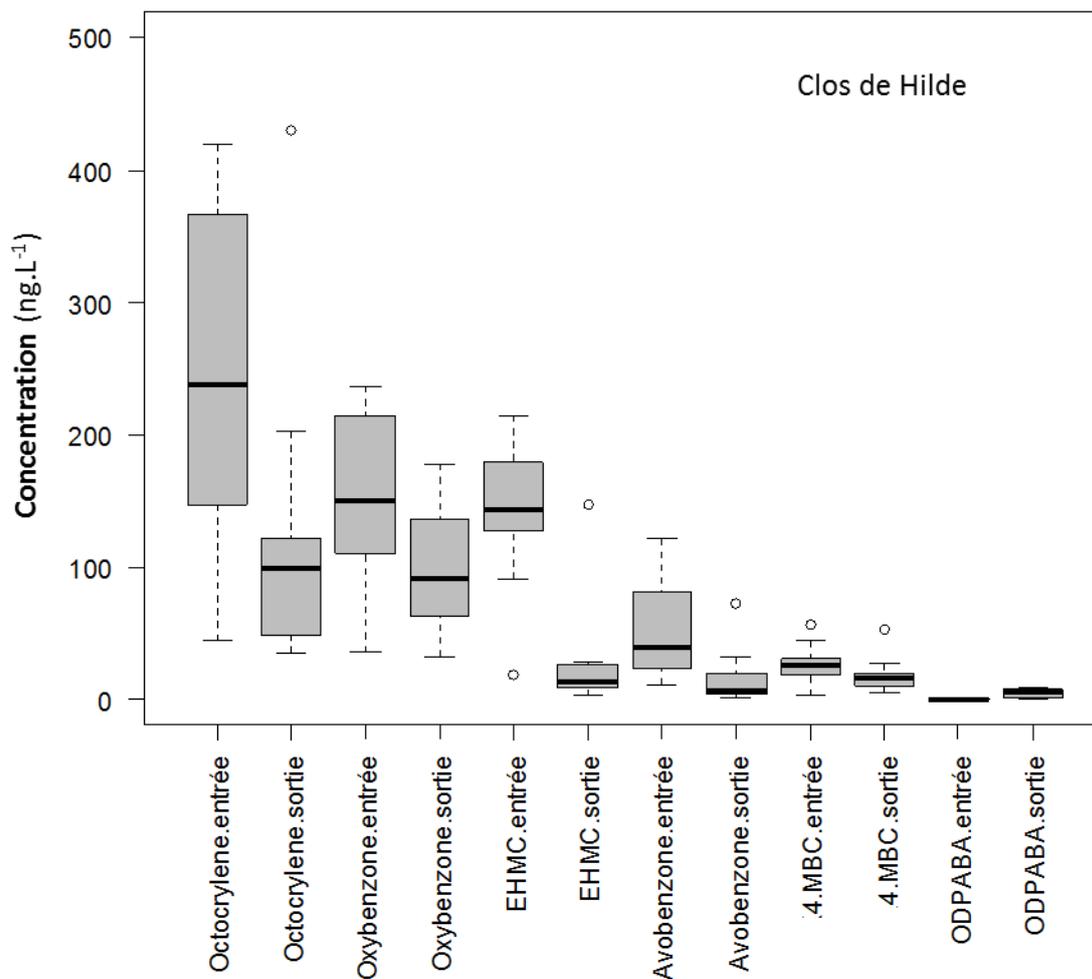


Figure 125. Concentrations en filtres UV en entrée et sortie de Clos de Hilde. n=15, sauf avobenzone n=13 et 11 et ODPABA n=2 et 8.

L'échantillonnage retenu en filtres UV ne permet pas d'associer les masses d'eaux entrantes aux masses d'eaux sortantes donc de calculer des rendements d'épuration. Cependant, on observe une disparition de la phase dissoute calculée sur les concentrations de l'ordre de 30 % pour les deux molécules les moins hydrophobes, l'oxybenzone et le 4-MBC, et autour de 70 % pour l'octocrylène, l'avobenzone et l'EHMC, plus hydrophobes. L'ODPABA est rarement détecté en entrée de STEP alors qu'il est détecté dans un plus grand nombre d'échantillons en sortie, traduisant un probable effet de matrice ne permettant pas la détection d'ODPABA en entrée de STEP aux concentrations présentes en sortie. Les niveaux de concentration en ODPABA en sortie de STEP sont en accord avec les niveaux de l'ordre du nanogramme par litre mesurés par Rodil et Moeder (2008a).

Kupper *et al.* (2006) ont reporté des taux d'élimination en 4-MBC, EHMC et octocrylène élevés, compris entre 92 et > 99 %. Les taux d'élimination d'octocrylène et EHMC sont également donnés dans cette gamme dans les STEP suisses étudiées par Balmer *et al.* (2005), les performances de traitement de 4-MBC et oxybenzone étant légèrement plus faibles et plus variables, de 18-82 % à 68-96 %, respectivement. Liu *et al.* (2012) ont mesuré des taux d'élimination supérieurs à 91 % pour les 4 filtres UV communs, l'analyse des boues de STEP a indiqué que cette élimination de la phase

dissoute est partiellement due à une concentration dans les boues, particulièrement pour 4-MBC et octocrylène. L'étude de Wick *et al.* (2011) a montré que 5 à 20 % de l'oxybenzone présent dans l'effluent d'entrée de traitement biologique secondaire était susceptible d'être éliminé par piégeage dans les boues. Les filtres UV 4-MBC EHMC et octocrylène ont par ailleurs été quantifiés dans des boues de STEP en Suisse à des concentrations moyennes de 1780, 110 et 4840 ng.g⁻¹ poids sec, respectivement (Plagellat *et al.*, 2006).

1.5.2 Variabilité saisonnière

La variabilité saisonnière sur les 6 campagnes effectuées du 26/06/12 au 06/12/12 est résumée par l'analyse en composantes principales Figure 126. L'axe principal est bien décrit par les quatre molécules aux concentrations les plus fortes, ODPABA et 4-MBC y étant moins bien représentés. Le plan des individus fait ressortir quatre espaces en fonction du type d'échantillon (entrée ou sortie) et en fonction de la saison. Les mois de juin, juillet et septembre (groupe « été ») sont en effet significativement distincts de ceux d'octobre, novembre et décembre (groupe « hiver »). Le Tableau 67 présente les facteurs d'augmentation calculés sur les concentrations entre les groupes hiver et été. Les faibles variations observées sur les débits d'entrée des STEP (donnés pour l'échantillonnage « médicaments » de 2011 dans le chapitre 2, section 1.1.2) rendent possible l'assimilation des évolutions des concentrations à celles des flux dans une première approximation. Oxybenzone, avobenzon et octocrylène ont des rapports supérieurs à 1, traduisant une probable surconsommation l'été. En revanche, le 4-MBC et l'EHMC ne semblent pas associés à des usages saisonniers estivaux. L'examen fin des sources (protection solaire saisonnière ou cosmétique à usage continu) permettrait de corroborer cette observation.

Une saisonnalité marquée a été observée par Li *et al.* (2007) entre les mois estivaux et le mois de février avec un facteur d'augmentation des concentrations en accord avec ceux mesurés dans les effluents de Clos de Hilde : de 1,2 à 5 selon les molécules, EHMC affichant les plus faibles variations saisonnières, oxybenzone les plus fortes. Sans quantifier leur augmentation, Balmer *et al.* (2005) ont également conclu à des apports estivaux supérieurs en entrée de STEP.

De façon générale, des concentrations estivales supérieures ont été mesurées dans les moules (Bachelot *et al.*, 2012 ; Fent *et al.*, 2010) dans les boues de STEP (Plagellat *et al.*, 2006) et dans les eaux de surface (Balmer *et al.*, 2005 ; Rodil et Moeder, 2008a).

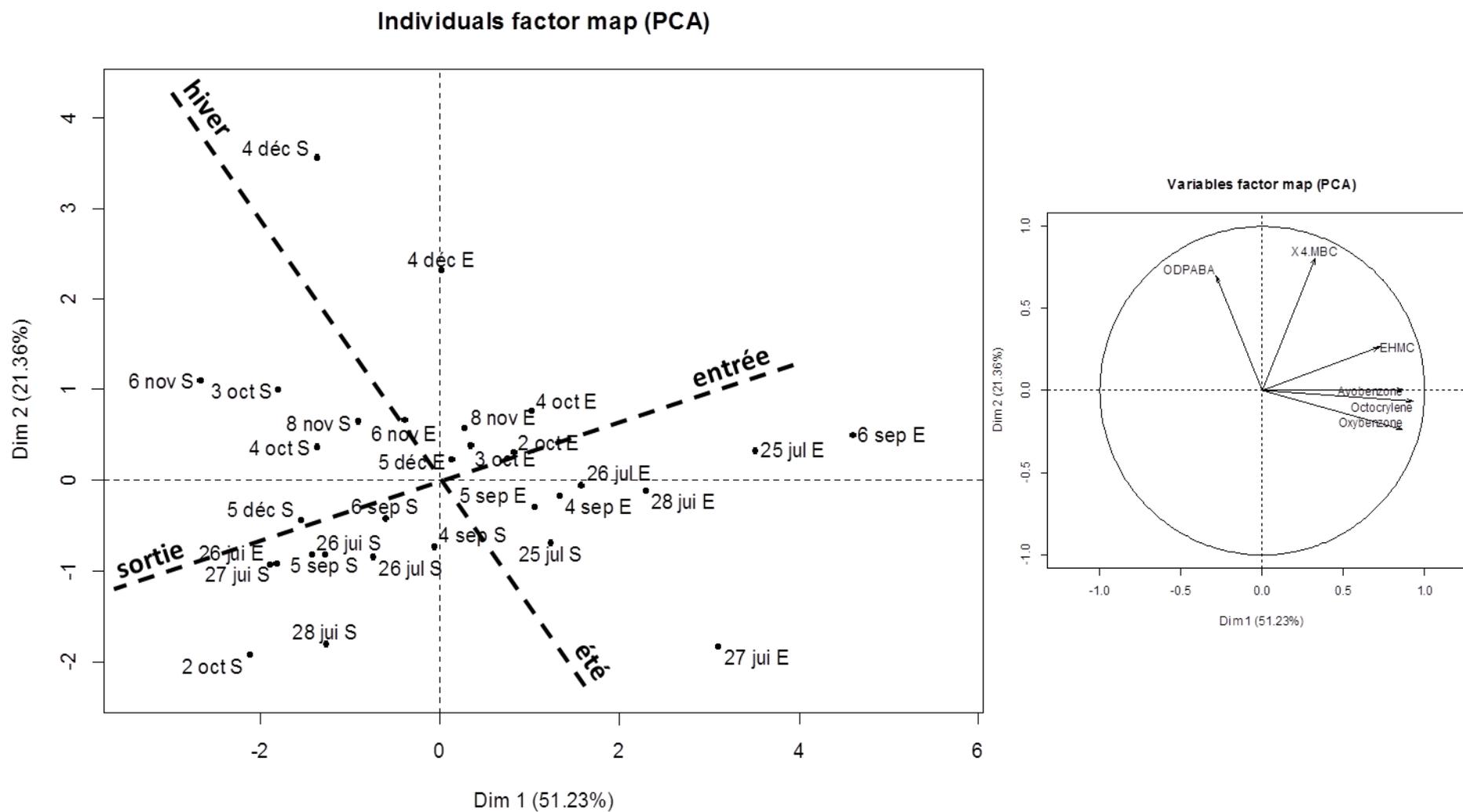


Figure 126. Analyse en composantes principales des filtres UV contenus dans les échantillons d'entrée et de sortie de STEP.

Tableau 67. Rapport des concentrations moyennes entre les échantillons du groupe été et ceux du groupe hiver.

Analyte	rapport été/hiver	
	entrée	sortie
Oxybenzone	1,6	1,5
Avobenzone	3,4	2,8
EHMC	0,8	0,6
ODPABA	1,2	0,0
4-MBC	0,6	0,6
Octocrylène	2,1	1,8

A titre indicatif, les flux déversés en Garonne par la sortie de Clos de Hilde avec les valeurs de concentration du groupe été sont présentés dans le Tableau 68 (débit estimé en sortie de STEP de 54 300 m³ .j⁻¹).

Tableau 68. Flux déversés en Garonne par la STEP Clos de Hilde en été 2012 et flux normalisés par 10 000 habitants dans cette étude et dans Balmer *et al.* (2005).

	flux en sortie de CH g.j ⁻¹	flux en sortie de CH normalisé g.j ⁻¹ .10 000 hab ⁻¹	flux en sortie normalisé (Balmer <i>et al.</i> , 2005) g.j ⁻¹ .10 000 hab ⁻¹
Oxybenzone	6,5 ± 2,0	0,25 ± 0,08	<0,05–5.5
Avobenzone	1,0 ± 1,1	0,04 ± 0,04	-
EHMC	0,7 ± 0,4	0,03 ± 0,02	0,05–1.2
ODPABA	< 0,01	-	-
4-MBC	0,6 ± 0,1	0,02 ± 0,004	0,2–22
Octocrylène	7,7 ± 5,2	0,29 ± 0,2	<0.04–4.3

Les apports normalisés par la population reliée à la STEP donnés par Balmer *et al.* (2005) sont globalement supérieurs aux apports calculés en sortie de Clos de Hilde, en lien avec les concentrations supérieures relevées dans leur étude.

Les apports totaux sont de l'ordre du gramme par jour et, à titre d'exemple, sont inférieurs aux flux déversés en disopyramide, 25^{ème} médicament (/53) en termes d'apport. Ces valeurs sont à comparer aux apports amont de l'estuaire pour estimer l'importance de l'apport des effluents urbains traités de Bordeaux par rapport aux apports totaux.

1.6 Synthèse sur les apports à la Garonne

L'estimation des flux en analytes déversés en Garonne par les STEP Clos de Hilde et Louis Fargue est donnée Tableau 69. Pour les médicaments, ces flux par temps sec sont directement la moyenne des flux calculés à partir des concentrations mesurées en mars, mai, octobre et novembre 2011. L'estimation par temps de pluie standard est basée sur les flux calculés en entrée et en sortie pour les mêmes mois pondérés par les pourcentages d'effluent brut déversé en Garonne en décembre 2011, à savoir 18 % sur le bassin de collecte de Clos de Hilde et 13 % sur le bassin de collecte de Louis

Fargue. Pour un mois donné, l'apport à la Garonne est donc calculé de la façon suivante (%DO est le pourcentage d'effluent brut déversé en Garonne) :

$$\text{flux Garonne} = \underbrace{(1 - \%DO_{CH}) \times \text{flux}_{CHSG}}_{\text{fonctionnement normal CH}} + \underbrace{(1 - \%DO_{LF}) \times \text{flux}_{LFSG}}_{\text{fonctionnement normal LF}} + \underbrace{\%DO_{CH} \times \text{flux}_{CHE}}_{\text{contribution DO CH}} + \underbrace{\%DO_{LF} \times \text{flux}_{LFE}}_{\text{contribution DO LF}}$$

En ce qui concerne les filtres UV, en raison des limitations de l'échantillonnage choisi, les résultats présentés dans le Tableau 69 pourraient être affectés d'une variabilité importante et doivent être considérés à titre indicatif. Les flux ont été calculés à partir des concentrations moyennes des mois d'été 2012. Pour la STEP Louis Fargue, non échantillonnée sur cette classe de molécules, les flux ont été estimés à partir des flux de Clos de Hilde par extrapolation du nombre d'habitants connectés, en considérant des performances de traitement équivalentes entre Clos de Hilde et Louis Fargue.

Tableau 69. Bilan des flux déversés en Garonne par les STEP Clos de Hilde et Louis Fargue par temps sec et par temps de pluie (estimation).

	Analytes	Flux apporté en Garonne g.j ⁻¹		facteur d'augmentation
		temps sec	temps de pluie	
Médicaments	abacavir	35 ± 9	42 ± 10	1,2
	indinavir	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,3	1,0
	lamivudine	6 ± 4	7 ± 4	1,1
	nelfinavir	< 0,14	< 0,15	-
	névirapine	1,4 ± 0,5	1,4 ± 0,5	1,0
	ritonavir	22 ± 11	23 ± 10	1,0
	saquinavir	1,6 ± 0,5	2,3 ± 0,7	1,4
	zidovudine	27 ± 15	29 ± 13	1,1
	bromazépam	1,5 ± 0,4	1,5 ± 0,4	1,0
	nordiazépam	3 ± 1	4 ± 1	1,0
	alprazolam	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0	0,8
	diazépam	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	1,1
	oxazépam	158 ± 45	158 ± 43	1,0
	lorazépam	3 ± 1	3 ± 1	1,0
	clonazépam	< 0,9	< 0,9	-
	méprobamate	64 ± 21	63 ± 21	1,0
	kétoprofène	273 ± 71	309 ± 72	1,1
	naproxène	266 ± 58	283 ± 62	1,1
	diclofénac	114 ± 23	122 ± 24	1,1
	ibuprofène	333 ± 109	453 ± 122	1,4
	hydroxy-ibuprofène	843 ± 828	1260 ± 1099	1,5
	paracétamol	4762 ± 2031	8401 ± 2991	1,8
	gemfibrozil	23 ± 6	25 ± 5	1,1
	bézafrate	96 ± 27	99 ± 27	1,0
	ac. 4-chlorobenzoïque	20 ± 7	20 ± 6	1,0
	acide fénofibrique	347 ± 108	445 ± 154	1,3
acide clofibrique	< 0,1	< 0,1	-	
pravastatine	22 ± 4	33 ± 8	1,5	

	Analytes	Flux apporté en Garonne g.j ⁻¹		facteur d'augmentation
		temps sec	temps de pluie	
	atorvastatine	1,6 ± 0,7	2,5 ± 1,1	1,5
	aténolol	133 ± 52	139 ± 55	1,0
	bisoprolol	39 ± 19	40 ± 19	1,0
	metoprolol	12 ± 4	12 ± 4	1,0
	propranolol	41 ± 11	44 ± 12	1,1
	sotalol	205 ± 94	210 ± 96	1,0
	timolol	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,3	1,0
	acébutolol	164 ± 9	198 ± 13	1,2
	imipramine	0,1 ± 0	0,1 ± 0	1,1
	doxépine	< 0,9	< 1	-
	amitriptyline	2 ± 0	3 ± 1	1,2
	fluoxétine	3 ± 1	3 ± 1	1,2
	primidone	8 ± 4	11 ± 6	1,3
	carbamazépine	75 ± 19	84 ± 21	1,1
	cétirizine	68 ± 17	82 ± 23	1,2
	ranitidine	2 ± 1,4	3 ± 1,6	1,5
	clenbuterol	< 0,5	< 0,5	-
	caféine	476 ± 167	686 ± 257	1,4
	théophylline	417 ± 106	511 ± 147	1,2
	sildénafil	0,2 ± 0,3	0,4 ± 0	1,7
	losartan	54 ± 2	73 ± 1	1,4
	salbutamol	2 ± 0,8	2,2 ± 0,9	1,1
	clopidogrel	3,1 ± 0,1	4,9 ± 0,5	1,6
	terbutaline	< 1,1	< 1,3	-
	disopyramide	20 ± 5	26 ± 7	1,3
Filtres UV	oxybenzone	14 ± 4	15 ± 5	1,1
	avobenzone	2 ± 2	3 ± 2	1,5
	EHMC	2 ± 1	4 ± 1	2,5
	ODPABA	< 0,01	< 0,01	-
	4-MBC	1 ± 1	2 ± 1	1,1
	octocrylène	17 ± 11	21 ± 12	1,3

A l'exception du paracétamol pour lequel l'impact d'un temps de pluie est notable, les flux déversés par les bassins de collecte de Clos de Hilde et Louis Fargue réunis n'augmentent pas de façon significative par temps de pluie. Ce résultat est attribué à la contribution de l'effluent uniquement décanté de la STEP Louis Fargue, dégradant globalement la qualité du flux déversé par temps sec, particulièrement sur les molécules les plus dégradables.

1.7 Approche complémentaire par analyse non ciblée

Les extraits des effluents d'entrée et de sortie moyennés 24 h de Clos de Hilde du 09/11/11 ont été analysés en triplicats sur LC-QTOF avec la méthode décrite dans le chapitre 2, section 4.2.1, en

ionisation par électronébulisation, en mode positif et négatif. On note que les échantillons étant extraits sur cartouche SPE suivant le protocole « médicaments », une sélection des analytes est opérée avant l'injection. L'identification des composés s'est appuyée sur les critères précisés dans le chapitre 2, section 4.2.2.

1.7.1 Etude globale

A titre d'exemple, la Figure 128 représente la masse nominale de chaque molécule détectée en fonction de son temps de rétention en entrée (a.) et en sortie (b.) en mode d'ionisation positif. On observe en entrée comme en sortie des séries espacées d'un écart de masse constant au sein d'une série, généralement de 44,02 Da. Ces séries sont attribuées à des polymères présentant une distribution de leur nombre de motifs constitutifs, en particulier le polyéthylène glycol (PEG) au motif constitutif de 44,02 Da (Figure 127). Ce composé est en effet un ingrédient composant de nombreux produits de soin et d'entretien et sa présence dans les eaux usées urbaines a été rapportée à des concentrations supérieures à 30 000 ng.L⁻¹ en entrée de STEP (Lara-Martín *et al.*, 2011). Le PEG est également un contaminant des systèmes LC/MS reconnu, présent dans les solvants organiques, dans les solutions de calibration des spectromètres et plus généralement dans les détergents (Waters, 715001307, Rev. D) mais son absence des blancs d'injection et des blancs protocole invalide l'hypothèse d'une contamination du système.

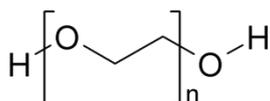


Figure 127. Formule du polyéthylène glycol.

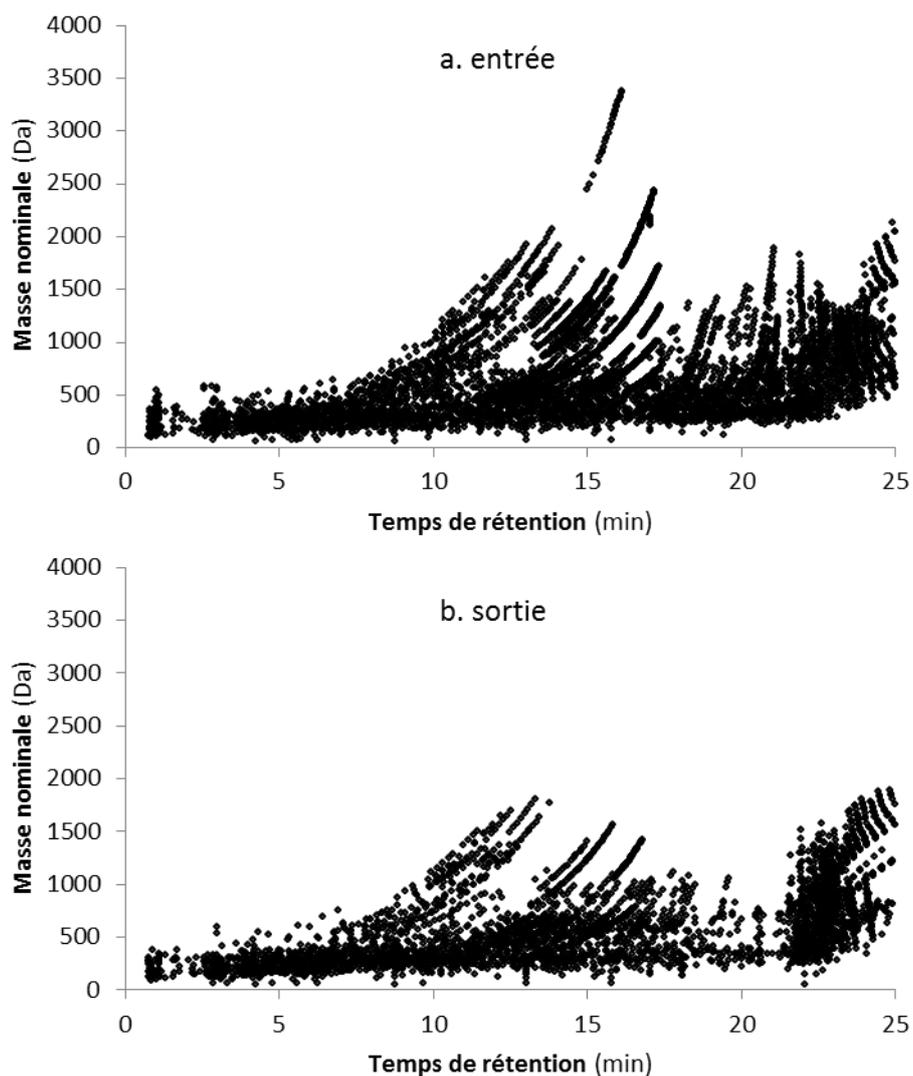


Figure 128. Profils de masses nominales détectées en fonction du temps de rétention sur les échantillons d'entrée et de sortie de STEP. Les masses supérieures à 1700 Da correspondent à des ions multichargés.

Le Tableau 70 résume les molécules détectées en fonction du mode d'ionisation.

Tableau 70. Nombre de molécules détectées dans les effluents d'entrée et de sortie selon le mode d'ionisation.

	ESI+	ESI-	Somme
Total des molécules détectées (entrée et sortie)	8936	1328	10264
Présents en entrée	6851	920	7771
Uniques en entrée	5015	849	5864
Présents en sortie	3921	479	4400
Uniques en sortie	2085	408	2493

Les résultats précédents sont représentés schématiquement en considérant qu'une molécule ne peut être ionisée dans les deux modes (Figure 129). Cette hypothèse n'est pas vérifiée pour toutes les molécules (cas du bézafibrate) mais est appliquée afin de représenter la somme des molécules sur le même schéma.

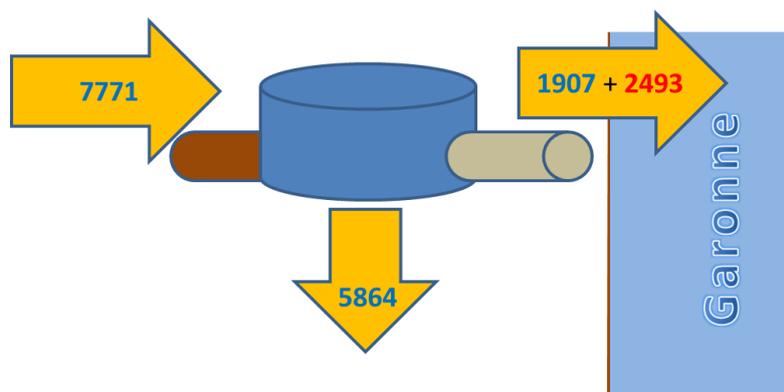


Figure 129. Schéma résumant les molécules détectées dans les effluents de la STEP Clos de Hilde.

Approximativement un quart des molécules entrant en STEP sont persistantes et sont détectées également en sortie, le reste disparaissant lors des traitements. Le deuxième constat est l'apparition de près de 2500 molécules en sortie de STEP. Ces molécules sont probablement des produits de dégradation générés dans la STEP au cours des traitements. Compte tenu des observations des chapitres précédents (en particulier l'effet de matrice, cf. chapitre 3.1, section 1.2.5), certaines molécules peuvent également apparaître en raison d'un moindre effet de matrice dans les eaux de sortie de STEP, il s'agirait alors de molécules non détectées en entrée plutôt que générées lors des traitements.

La distribution des masses nominales (Figure 130) indique que les molécules générées en station d'épuration (uniques à la sortie) se classent pour près de 35 % d'entre elles dans la catégorie 200-400 Da ; elles sont globalement de plus petite masse que les molécules dégradées (uniques à l'entrée) ou récalcitrantes (communes). Ces molécules étant probablement des sous-produits de molécules présentes en entrée et dégradées, on peut attribuer les mécanismes de dégradation à des ruptures de liaison plutôt qu'à des réarrangements moléculaires. Les molécules dégradées (uniques à l'entrée) se distinguent par une prédominance dans les classes de masses élevées, à partir de 800 Da.

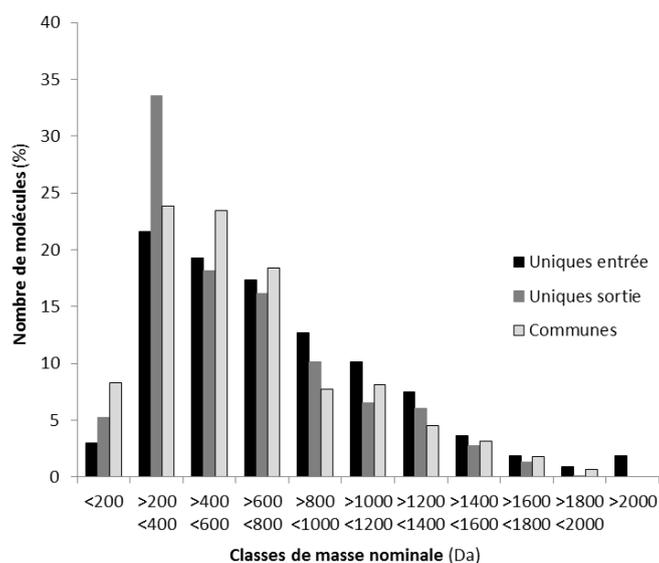


Figure 130. Distribution des molécules détectées en mode d'ionisation positif en fonction de leur masse nominale.

Avec les critères d'identification portant sur les atomes permis (cf. chapitre 2, section 4.2.2), l'attribution d'une formule brute est possible pour 5404 molécules (/8936) en mode ESI+ et pour 1187 (/1328) en mode ESI-. Cependant, l'examen approfondi des attributions de formule brute révèle une incohérence dans l'identification des signaux appartenant aux motifs polymériques, en particulier ceux séparés de 44,02 Da puisque les formules brutes de deux signaux consécutifs ne se différencient pas du motif constitutif des PEG (C₂H₄O) mais ont une composition atomique totalement différente. Ainsi, le Tableau 71 présente l'identification de deux signaux appartenant à un motif polymérique, séparés de 44,02 Da. Les formules brutes attribuées sont clairement improbables puisque du plus léger vers le plus lourd on observe 3 carbones, 8 hydrogènes et 9 oxygènes supplémentaires, ainsi que 8 azotes et 1 soufre en moins, ce qui est incompatible avec l'hypothèse de deux polymères se différenciant uniquement par un motif constitutif de PEG. Le score d'identification, calculé par le rapport de la masse mesurée à la masse calculée à partir des masses atomiques exactes, est pourtant bon, supérieur à 99 %, et n'est donc pas un critère d'élimination de ces anomalies.

Tableau 71. Identification de deux signaux appartenant à un motif polymérique de différence de masse de 44,02 Da dans l'échantillon d'entrée de STEP.

Temps de rétention min	Masse nominale Da	Formule brute attribuée
11,749	1108,6944	C ₄₀ H ₈₈ N ₂₆ O ₉ S
11,927	1152,7169	C ₄₃ H ₉₆ N ₁₈ O ₁₈

L'interprétation des formules brutes par le calcul des rapports atomiques, des taux d'insaturation ou encore des indices d'aromaticité ne pourra être envisagée que lorsque les anomalies d'identification des signaux issus de polymères seront corrigées.

1.7.2 Etude moléculaire

Les molécules préalablement détectées sont identifiées par comparaison à la base de données Metlin : échantillons d'entrée et de sortie confondus, 1029 molécules sont reconnues en mode ESI+ et 553 en mode ESI-. Tous les composés sont reconnus avec un score d'identification, basé sur l'adéquation de la masse théorique à la masse mesurée, supérieur à 85 %. L'identification n'est généralement considérée comme absolue que si 3 critères d'identification se recoupent, comme par exemple une identification en MS simple, l'identification des fragments associés en MS/MS ou l'accord du temps de rétention avec une valeur renseignée de base de données ("Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results," 2002). Ici, il s'agit d'identifications probables puisque l'acquisition est en MS simple.

Dans un premier temps, on retrouve 17 des 53 médicaments du protocole d'analyse ciblée de cette étude, soit moins de 2 % des molécules identifiées dans le screening haute résolution (Tableau 72). Pour les molécules identifiées dans les deux modes d'ionisation, la différence de temps de rétention peut être due aux phases mobiles différentes (acidification en mode d'ionisation positif) et ne constitue pas un critère éliminatoire. Le métoprolol et la carbamazépine sont proposés plusieurs fois à différents temps de rétention, indiquant la présence d'isomères de ces molécules. Les analyses

non-ciblées par spectrométrie de masse haute résolution sont moins sensibles que les analyses ciblées puisqu'une trentaine de molécules détectées dans le cadre du suivi des STEP ne le sont pas en non-ciblé. En outre, l'identification du diazépam à 3,6 min (sur 26 min) est improbable, son temps de rétention en analyse ciblée étant de 8,6 min (sur 17 min) dans des conditions chromatographiques similaires (colonne et phases mobiles). Ces constats soulignent les limitations de l'identification en MS simple. L'acébutolol est la molécule du protocole ciblé qui a la plus forte réponse ; il est en effet quantifié à plus de 1000 ng.L⁻¹ en entrée de STEP (cf. section 1.1.1 de ce chapitre).

Tableau 72. Analytes du protocole d'analyse ciblée détectés. Le rang classe les molécules reconnues parmi les 8936 détectées en ESI+ et les 1328 en ESI- en prenant en compte l'abondance moyenne entre entrée et sortie.

Analyte	ESI+				ESI-			
	Rang	T _r (min)	entrée	sortie	Rang	T _r (min)	entrée	sortie
névirapine	790	11,1	X					
ritonavir	231	21,3	X	X				
<i>diazépam</i>					329	3,6		X
oxazépam	121	13,9	X	X	198	13,9	X	X
ibuprofène					189	19,7	X	X
hydroxy-ibuprofène					1082	10,4		X
gemfibrozil					742	21,7		X
bézafibrate	241	17,2	X	X	167	14,3	X	X
acide fénofibrique	186	20	X	X	98	14,8	X	
métoprolol		proposé 6x						
propranolol	69	10,7	X	X				
sotalol	256	3,6	X	X				
acébutolol	21	7,7	X	X	1235	6,5	X	
carbamazépine		proposé 2x						
cétirizine	93	14,2	X	X				
losartan	197	14,1	X	X				
salbutamol	173	11,6	X	X				
clopidogrel	555	17,5	X					

Dans un second temps, les 46 médicaments présents à la fois parmi les 500 molécules les plus abondantes identifiées dans chaque mode d'ionisation et dans la liste MEDIC'AM avec une consommation non négligeable (seuil arbitraire de 2 kg consommés en 2010) sont donnés dans le Tableau 73. Les molécules sont reconnues avec un score d'identification supérieur à 99,7 % (sauf fluconazole, > 97 %).

Le rang dans la base de donnée du screening haute résolution dépend de la réponse de l'analyte si bien qu'une molécule comme la cétirizine, au 280^{ème} rang des molécules consommées (MEDIC'AM 2010) occupe le 93^{ème} rang des molécules détectées dans les effluents de STEP de Clos de Hilde en raison de son fort coefficient de réponse. L'examen du rang dans la base de données du screening haute résolution ne traduit donc pas nécessairement de fortes concentrations.

Les familles les plus représentées sont les antiarythmiques, les antihypertenseurs et les β-bloquants. Le filtre UV sulisobenzone est détecté en mode ESI-.

On dénombre 14 molécules présentes avec de fortes réponses en entrée et non détectées dans les effluents de sortie (cases grisées). L'observation inverse, d'augmentation voire d'apparition en sortie, est délicate à interpréter au regard des effets de matrice déjà mis en évidence. Cependant, compte tenu de leurs abondances élevées en sortie, la majorité des molécules retenues ici est susceptible d'être persistantes et de poser un risque pour l'hydrosystème récepteur. Ces molécules identifiées en entrée et/ou sortie de STEP pourraient être incluses aux études ultérieures portant sur les rejets urbains et leur suivi dans le milieu.

L'analyse non ciblée par spectrométrie de masse haute résolution s'avère être une technique complémentaire de l'analyse ciblée par triple quadropôle. Elle ne permet en effet pas de détecter toutes les molécules ni de les quantifier mais procure des informations qualitatives et structurales sur les effluents en général. En outre, par comparaison aux bases de données existantes, elle a permis d'identifier 46 molécules à inclure de façon prioritaire aux listes de caractérisation des effluents, dont 13 molécules sont non renseignées dans la bibliographie.

Tableau 73. Sélection de composés identifiés dans la base de données METLIN. L'indice d'occurrence bibliographique correspond au nombre d'articles identifiés par le moteur de recherche Scopus répondant aux mots-clés « nom de la molécule + wastewater ». * la confirmation de l'identification de ces structures par étude des fragments générés en MS/MS est requise.

Mode de détection	Composé	Famille	Rang de réponse base de données	Rang conso MEDIC'AM	Indice d'occurrence biblio	Formule*	Tr min	Masse Da	Abondance entrée	Abondance sortie
ESI+	Céliprolol	β-bloquant	11	56	5	C ₂₀ H ₃₃ N ₃ O ₄	9,2	379,2475	5,5.10 ⁷	9,2.10 ⁷
	O-Desméthyl-venlafaxine	antidépresseur (métabolite)	16	65 (venlafaxine)	8	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	7,6	263,1889	4,5.10 ⁷	6,0.10 ⁷
	Flecainide	Antiarythmique	20	62	0	C ₁₇ H ₂₀ F ₆ N ₂ O ₃	12,1	414,1382	0	6,5.10 ⁷
	Valsartan	Antihypertenseur	30	22	15	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₃	18,2	435,2276	2,9.10 ⁷	1,7.10 ⁷
	Lidocaïne	Anesthésique local	44	292	6	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	6,1	234,1728	2,4.10 ⁷	6,3.10 ⁶
	Telmisartan	Antihypertenseur	55	101	1	C ₃₃ H ₃₀ N ₄ O ₂	14,4	514,2376	0	2,3.10 ⁷
	Ciclopirox	Antifongique	81	310	1	C ₁₂ H ₁₇ NO ₂	11,5	207,1261	1,7.10 ⁷	0
	Netilmicine	Antibiotique	87	452	5	C ₂₁ H ₄₁ N ₅ O ₇	7,3	475,2999	9,3.10 ⁶	6,1.10 ⁶
	Diltiazem	Inhibiteur calcique	117	46	23	C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₄ S	12,4	414,1614	0	1,1.10 ⁷
	Clarithromycine	antibiotique	138	63	84	C ₃₈ H ₆₉ NO ₁₃	14,6	747,4781	6,1.10 ⁶	9,6.10 ⁶
	Nadolol	β-bloquant	140	283	17	C ₁₇ H ₂₇ NO ₄	11,1	309,1943	9,2.10 ⁶	0
	Oxprénolol	β-bloquant	153	410	6	C ₁₅ H ₂₃ NO ₃	4,6	265,1671	2,7.10 ⁶	5,9.10 ⁶
	Metformine	Antidiabétique	176	2	19	C ₄ H ₁₁ N ₅	0,9	129,1015	6,2.10 ⁶	1,4.10 ⁶
	Citalopram	Antidépresseur	178	206	45	C ₂₀ H ₂₁ FN ₂ O	11,9	324,1642	4,1.10 ⁶	7,5.10 ⁶
	Betaxolol	β-bloquant	184	323	16	C ₁₈ H ₂₅ NO ₃	8,9	307,2153	6,3.10 ⁶	9,7.10 ⁵
	Azithromycine	Antibiotique	204	165	67	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂	9,5	748,5096	5,7.10 ⁶	6,6.10 ⁶
	Propafenone	Antiarythmique	207	122	0	C ₂₁ H ₂₇ NO ₃	13,5	341,1995	4,4.10 ⁶	6,5.10 ⁶
	Pentoxifylline	Vasodilatateur	261	68	21	C ₁₃ H ₁₈ N ₄ O ₃	9,4	278,1372	0	4,8.10 ⁶
	Quinidine	Antiarythmique	264	573	0	C ₂₀ H ₂₄ N ₂ O ₂	6,5	324,1839	0	4,7.10 ⁶
	Verapamil	Antiarythmique	267	42	5	C ₂₇ H ₃₈ N ₂ O ₄	14,4	454,2836	4,6.10 ⁶	0
	Fexofenadine	Antihistaminique	268	152	3	C ₃₂ H ₃₉ NO ₄	14,6	501,2885	4,6.10 ⁶	0
	Naftidrofuryl	Vasodilatateur	289	44	0	C ₂₄ H ₃₃ NO ₃	14,8	383,2464	4,2.10 ⁶	0
	Oxymetazoline	Décongestionnant	306	635	0	C ₁₆ H ₂₄ N ₂ O	5,3	260,1889	2,4.10 ⁶	3,8.10 ⁶
	Acide tranexamique	Antifibrinolytique	312	81	1	C ₈ H ₁₅ NO ₂	5,0	157,1102	2,7.10 ⁶	1,1.10 ⁶
Méthocarbamol	Myorelaxant	314	32	0	C ₁₁ H ₁₅ NO ₅	8,5	241,0943	7,1.10 ⁵	3,0.10 ⁶	

Mode de détection	Composé	Famille	Rang de réponse base de données	Rang conso MEDIC'AM	Indice d'occurrence biblio	Formule*	Tr min	Masse Da	Abondance entrée	Abondance sortie
ESI-	Megestrol	Hormone	331	41	5	C ₂₂ H ₃₀ O ₃	18,9	342,2196	3,4.10 ⁶	0
	Sulpiride	Antipsychotique	340	203	6	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S	4,2	341,1408	9,0.10 ⁵	2,5.10 ⁶
	10,11-Dihydro-dihydroxy-carbamazepine	Antiépileptique (métabolite)	389	37 (carbamazépine)	2	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₃	8,8	270,1005	9,1.10 ⁵	1,8.10 ⁶
	Trihexyphenidyl	Anticholinergique	410	428	2	C ₂₀ H ₃₁ NO	14,9	301,2404	2,5.10 ⁶	2,1.10 ⁶
	Maprotiline	Antidépresseur	496	365	0	C ₂₀ H ₂₃ N	12,3	277,1832	0	2,0.10 ⁶
	Bifonazole	Antifongique	498	387	0	C ₂₂ H ₁₈ N ₂	12,0	310,1481	1,9.10 ⁶	0
	Acide mycophenolique	Immunosuppresseur	38	52	0	C ₁₇ H ₂₀ O ₆	14,8	320,1262	1,0.10 ⁷	4,5.10 ⁶
	Irbesartan	Antihypertenseur	42	10	5	C ₂₅ H ₂₈ N ₆ O	16,5	428,2315	1,4.10 ⁷	0
	Sulisobenzone	Filtre UV	58	X	6	C ₁₄ H ₁₂ O ₆ S	11,5	308,0357	0	9,6.10 ⁶
	Acide niflumique	Anti-inflammatoire	91	80	0	C ₁₃ H ₉ F ₃ N ₂ O ₂	15,9	282,0615	7,1.10 ⁶	0
	Ciprofibrate	Hypolipédémiant	98	161	0	C ₁₃ H ₁₄ Cl ₂ O ₃	4,1	288,0308	6,7.10 ⁶	0
	Cilastatine	Associé à l'imipenème (antibio)	99	495	0	C ₁₆ H ₂₆ N ₂ O ₅ S	10,3	404,1619	6,7.10 ⁶	0
	Clomipramine	Antidépresseur	110	177	6	C ₁₉ H ₂₃ ClN ₂	16,6	314,1558	0	5,9.10 ⁶
	Furosémide	Diurétique	181	47	42	C ₁₂ H ₁₁ ClN ₂ O ₅ S	10,6	330,0077	3,5.10 ⁶	2,8.10 ⁶
	Ramipril	Antihypertenseur	255	228	1	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O ₅	11,8	462,2377	8,5.10 ⁵	1,5.10 ⁶
	Hydrochlorothiazide	Diurétique	258	195	43	C ₇ H ₈ ClN ₃ O ₄ S ₂	4,8	296,9644	0	2,3.10 ⁶
	Rosuvastatine	Antihypertenseur	300	151	4	C ₂₂ H ₂₈ FN ₃ O ₆ S	15,3	481,1683	2,0.10 ⁶	0
	Fluconazole	Antifongique	341	314	5	C ₁₃ H ₁₂ F ₂ N ₆ O	8,1	306,1040	6,3.10 ⁵	1,1.10 ⁶
	Simvastatine	Antihypertenseur	350	99	16	C ₂₅ H ₄₀ O ₆	19,2	436,2827	1,6.10 ⁶	0
	Loxapine	Antipsychotique	359	254	0	C ₁₈ H ₁₈ ClN ₃ O	8,9	373,1195	1,5.10 ⁶	1,2.10 ⁶
Procarbazine	Antinéoplasique	454	646	1	C ₁₂ H ₁₉ N ₃ O	5,2	221,1527	9,4.10 ⁵	0	

1.8 Conclusions

Niveaux de concentration

Les niveaux de concentrations en médicaments et en filtres UV ont été évalués sur les effluents d'entrée et de sortie des différentes filières des stations d'épuration et couvrent une large gamme, allant des limites de détection à plus de 100 000 ng.L⁻¹.

Les flux des médicaments en entrée de STEP sont équivalents pour les deux STEP de l'étude et sont corrélés aux données de consommation. La prédiction de l'un par rapport à l'autre n'est toutefois valide que sous certaines hypothèses, nécessitant de connaître les données de métabolisation et le mode de prescription des composés considérés. L'effluent de sortie générale de la STEP Louis Fargue (avant réhabilitation) est globalement plus contaminé que celui de Clos de Hilde, la proportion importante d'effluent non traité biologiquement étant à l'origine de cette différence, particulièrement sur les molécules les mieux traitées lors du traitement secondaire biologique.

Performances d'épuration

En considérant leur comportement lors du traitement en STEP, **les médicaments représentent une famille hétérogène de molécules puisque les rendements d'épuration couvrent la gamme de 0 à 100 %**, de très persistants (oxazépam, méprobamate) à très dégradables (paracétamol, ibuprofène). Dans le cas des filtres UV, l'échantillonnage ne permet pas de calculer des rendements d'épuration *stricto sensu* puisqu'il n'est pas possible d'associer une masse d'eau entrante à une masse d'eau sortante. L'examen des niveaux de concentration comparés entre entrée et sortie indique une disparition de la phase dissoute de 30 à 70 %, les valeurs les plus élevées étant atteintes pour les filtres UV les plus hydrophobes, suggérant une adsorption aux boues au cours du traitement.

La station d'épuration Clos de Hilde est globalement plus performante au regard des analytes considérés en raison de la proportion importante d'effluent non traité biologiquement en sortie générale de Louis Fargue. Dans le détail des filières de traitement, on constate que le traitement primaire n'élimine que très peu de molécules de la phase dissoute, l'abatement, lorsqu'il a lieu, étant observé lors du traitement secondaire. En outre, en ne considérant que ce dernier, la biofiltration opérée à Clos de Hilde est plus performante que le traitement par boues activées de Louis Fargue. Après réhabilitation de la STEP Louis Fargue, les performances n'ont pas été significativement améliorées mais de plus amples études seront nécessaires afin de caractériser la STEP sous cette configuration.

Variabilités des effluents

Le suivi intra-journalier a montré des évolutions de concentration en phase entre l'entrée et la sortie de la STEP, le décalage des profils de concentration de 3 h étant attribué aux temps de résidence des masses d'eau en STEP. **La variabilité intra-journalière du flux est élevée** et atteint un facteur 4 au

sein d'une même journée, ce qui justifie la nécessité d'un échantillonnage moyenné 24 h pour l'étude globale de la contamination des rejets et des performances des procédés.

En revanche, pour une pluviométrie nulle, **les effluents moyens sont peu variables sur 3 jours consécutifs**, plus de la moitié des analytes présentant un écart-type relatif inférieur à 20 %.

A plus grande échelle temporelle, **il existe une variabilité inter-mensuelle significative**, en phase entre l'entrée et la sortie, **mais relativement faible** (< 50 % pour plus de la moitié des molécules). Ce n'est pas le cas des filtres UV pour lesquels les concentrations doublent de l'hiver à l'été pour l'oxybenzone, l'avobenzon et l'octocrylène, mais n'évoluent pas pour le 4-MBC et le EHMC.

L'incidence d'un temps de pluie est minime sur le fonctionnement de la STEP, avec des flux entrants équivalents à un temps sec pour une majorité de molécules. En revanche, certains analytes présentent des variations de flux non associées à la dilution globale des eaux résiduaires, variations attribuées à la réactivité des molécules en amont de la STEP. Des études complémentaires sont requises pour comprendre l'influence du transport dans le réseau sur les flux entrants.

L'apport au milieu est modifié par temps de pluie en raison des déversements d'eaux non traitées, particulièrement concernant les molécules à rendement d'épuration élevé. Par rapport à un fonctionnement normal, cet apport est multiplié par plus de 2 pour paracétamol, atorvastatine, ranitidine, pravastatine et ibuprofène.

Etudes complémentaires

L'analyse non ciblée a montré que si elle permet l'élimination de près de 6000 composés sur un total proche de 8000, **l'épuration génère également 2500 molécules** de plus faibles masses, attribuées à des produits de dégradation formés *in-situ*.

Enfin les expériences de **déconjugaison** abordées au chapitre 3.1, section 1.6, ont mis en évidence **l'absence de formes conjuguées dans les effluents d'entrée et de sortie de STEP**. Ces molécules étant pourtant excrétées lors de l'élimination des médicaments par le corps humain, **une déconjugaison spontanée lors du transport des molécules dans les réseaux** est suspectée.

Chapitre 4.2 : Cas d'un rejet de STEP dans une rivière à faible débit : la Jalle de Blanquefort

2.1	Contamination de la phase dissoute	283
2.1.1	Occurrence des analytes	283
2.1.2	Etude des variabilités par point de prélèvement	287
2.2	Contamination des particules.....	292
2.2.1	Concentrations en MES	292
2.2.2	Occurrence et variabilités par point de prélèvement	292
2.2.3	Partition dissous-particulaire	295
2.2.4	Estimation des coefficients de partage	297
2.3	Contamination des sédiments.....	298
2.3.1	Granulométrie des sédiments	298
2.3.2	Occurrence et variabilités par point de prélèvement	300
2.4	Etude de la conservativité des analytes	302
2.5	Conclusions.....	305

2 Cas d'un rejet de STEP dans une rivière à faible débit : la Jalle de Blanquefort

Dans cette partie, l'influence du rejet de la station d'épuration Cantinolle, localisée dans le nord de l'agglomération bordelaise, sur son milieu récepteur, la Jalle de Blanquefort est étudiée. Cette rivière urbaine, de faible débit, présente l'intérêt d'être un modèle d'hydrosystème plus simple que la Gironde, permettant une première approche du devenir des molécules après déversement dans le milieu. L'étude successive de la contamination des compartiments dissous, particulaire et sédimentaire est présentée, le dernier point de cette partie développe la dégradation des molécules *in-situ* par calculs des flux dissous et particulaire.

2.1 Contamination de la phase dissoute

2.1.1 Occurrence des analytes

a) Par prélèvement ponctuel

Dans les 14 échantillons de la Jalle prélevés en 7 points sur les 2 campagnes (plan d'échantillonnage donné dans le chapitre 2, section 1.3), 45 molécules sont détectées au moins une fois, dont 27 le sont systématiquement (Tableau 74).

Tableau 74. Taux de détection des molécules relevés sur les 14 échantillons d'eau de la Jalle de Blanquefort. Le taux exprime le pourcentage du nombre d'échantillons dans lesquels la molécule est détectée.

Analyte	Taux de détection %	Analyte	Taux de détection %
abacavir	100	pravastatine	57
indinavir	36	atorvastatine	0
lamivudine	79	aténolol	100
nelfinavir	0	bisoprolol	100
névirapine	93	métoprolol	100
ritonavir	86	propranolol	100
saquinavir	0	sotalol	100
zidovudine	0	timolol	93
bromazépam	0	acébutolol	100
nordiazépam	100	imipramine	64
alprazolam	50	doxépine	0
diazépam	43	amitriptyline	79
oxazépam	100	fluoxétine	86
lorazépam	93	primidone	93
clonazépam	0	carbamazépine	100
méprobamate	100	cétirizine	100
kétoprofène	86	ranitidine	79
naproxène	100	clenbuterol	0
diclofénac	100	caféine	100

Analyte	Taux de détection %	Analyte	Taux de détection %
ibuprofène	93	théophylline	100
hydroxy-ibuprofène	100	sildénafil	64
paracétamol	50	losartan	100
gemfibrozil	100	salbutamol	64
bézafrate	100	clopidogrel	100
ac. 4-chlorobenzoïque	86	terbutaline	21
acide fénofibrique	100	disopyramide	100
acide clofibrique	100		

Les concentrations mesurées pour l'ensemble des points de la Jalle de Blanquefort situés à l'aval du rejet de la STEP sont données pour les deux campagnes de prélèvement Figure 131. A 1 km du rejet en décembre 11, le classement des molécules par gammes de concentration est le suivant (concentrations décroissantes par classe) :

> 100 ng.L ⁻¹ (2) :	sotalol (230 ng.L ⁻¹), oxazépam,
10 à 100 ng.L ⁻¹ (21) :	acide fénofibrique, aténolol, carbamazépine, paracétamol, diclofénac, propranolol, caféine, hydroxy-ibuprofène, méprobamate, acébutolol, cétirizine, théophylline, bézafrate, bisoprolol, kétoprofène, naproxène, losartan, disopyramide, métoprolol, acide 4-chlorobenzoïque, ibuprofène,
1 à 10 ng.L ⁻¹ (12) :	primidone, pravastatine, acide clofibrique, lorazépam, clopidogrel, amitriptyline, fluoxétine, ritonavir, nordiazépam, gemfibrozil, salbutamol, timolol,
< 1 ng.L ⁻¹ (10) :	ranitidine, abacavir, alprazolam, sildénafil, névirapine, terbutaline, lamivudine, diazépam, imipramine, indinavir,
Non détectées (8) :	nelfinavir, saquinavir, zidovudine, bromazépam, clonazépam, atorvastatine, doxépine, clenbuterol

Le classement des molécules au même point en juillet 2012 est globalement équivalent.

La comparaison à d'autres rivières impactées par des rejets d'eaux usées traitées donne des niveaux de concentration similaires (Ashton *et al.*, 2004 ; Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013 ; González Alonso *et al.*, 2010 ; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008 ; Rodil *et al.*, 2012). Les concentrations inférieures en oxazépam relevées dans la littérature dans les effluents de STEP (*cf.* chapitre 4.1, section 1.1.1) sont également observées dans les eaux de rivière : les concentrations rapportées par Baker et Kasprzyk-Hordern (2013) dans une rivière périurbaine (Royaume-Uni) aux caractéristiques similaires sont significativement plus faibles que celles mesurées dans la Jalle de Blanquefort. L'étude de diverses eaux de surface en région Rhône-Alpes (France) par Vulliet et Cren-Olivé (2011) a donné des niveaux de contamination moyens globalement plus faibles que ceux mesurés dans la Jalle de Blanquefort. Cependant, le calcul du rapport de concentration oxazépam sur carbamazépine indique une contamination relative équivalente entre les hydrosystèmes étudiés et la Jalle de Blanquefort pour ces deux molécules. Ainsi, la différence observée entre le Royaume-Uni (Baker et Kasprzyk-Hordern, 2013) et la France (Vulliet et Cren-Olivé, 2011 ; cette étude) confirme les probables différences de prescription d'oxazépam entre les deux pays.

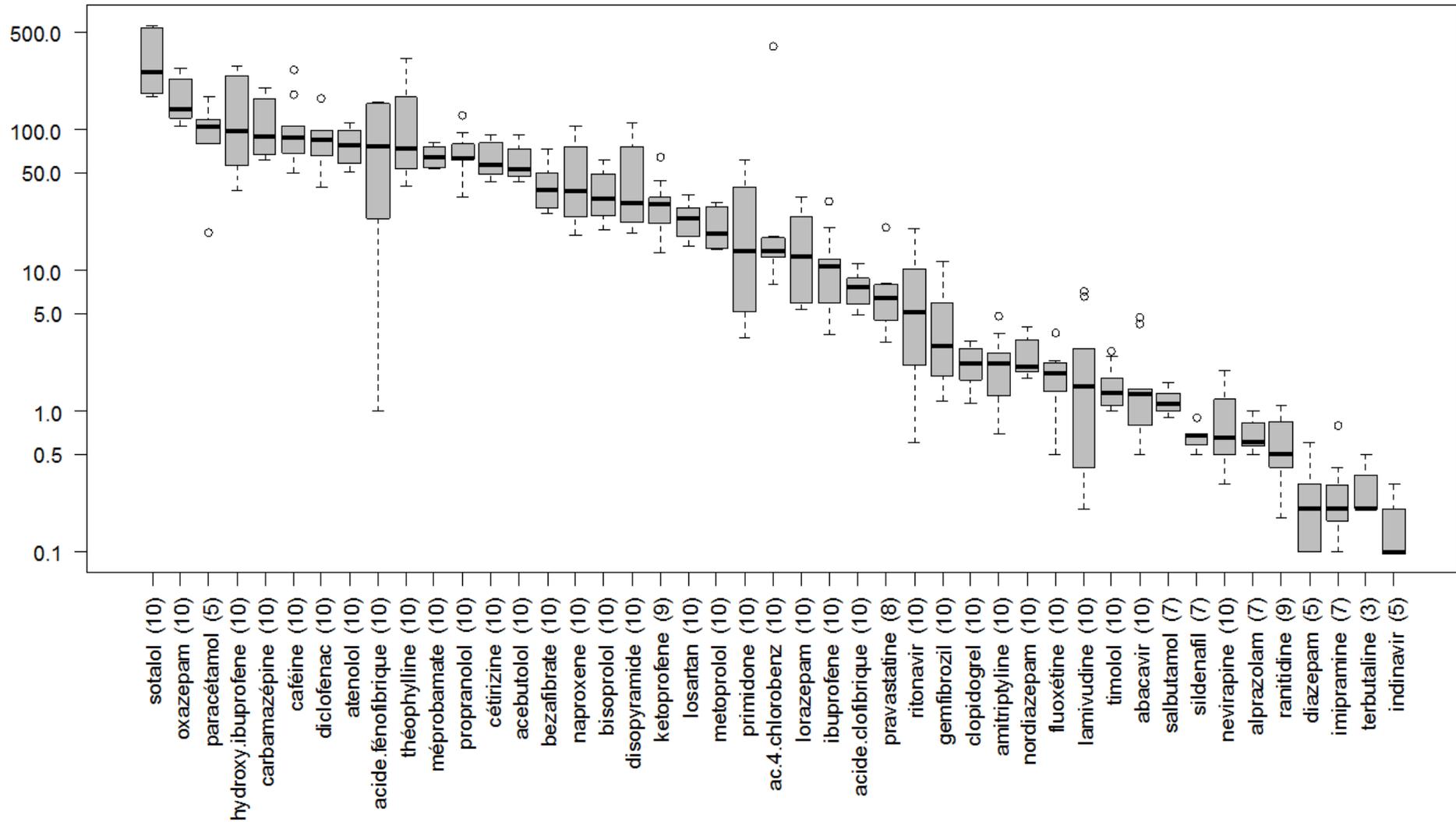


Figure 131. Concentrations mesurées aux 5 points de la Jalle de Blanquefort situés à l'aval du rejet de la STEP pour les 2 campagnes de prélèvement. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses. Les valeurs inférieures à la LQ ont été exclues.

Concernant les β -bloquants, les concentrations rapportées par Ramil *et al.* (2010) dans plusieurs rivières périurbaines allemandes diffèrent tant par le niveau global de contamination que par la répartition entre molécules : des concentrations de plus de 100 ng.L⁻¹ et jusqu'à 2 000 ng.L⁻¹ (bisoprolol) sont mesurées. Les auteurs précisent que plus de 50 % du débit des rivières peut être composé d'effluent urbain, ce qui explique les niveaux observés. Le classement des β -bloquants communs par concentration moyenne en ng.L⁻¹ y est le suivant : bisoprolol (940) > sotalol (860) > métoprolol (400) > aténolol (260) > propranolol (40) > acébutolol (7) alors que dans la Jalle de Blanquefort, acébutolol et propranolol sont quantifiés à des teneurs équivalentes à celles de l'aténolol (60-80 ng.L⁻¹), le bisoprolol et le métoprolol étant mesurés à plus faibles concentrations (\approx 20 ng.L⁻¹). Ainsi, les probables différences d'usage des molécules limitent l'extrapolation des concentrations entre pays.

En ce qui concerne l'effluent de la STEP Cantinolle, les concentration rencontrées diffèrent peu de celles de la STEP Clos de Hilde, données dans le chapitre 4.1, section 1.2.1, avec un rapport de concentration Cantinolle sur Clos de Hilde moyen de $1,0 \pm 0,7$ toutes molécules confondues. La variabilité peut être élevée puisque seuls deux prélèvements à Cantinolle permettent d'établir cette comparaison. Dans le détail (Figure 132), il existe des différences significatives pour certaines molécules comme naproxène, kétoprofène, gemfibrozil, abacavir ou ranitidine mais les traceurs persistants comme oxazépam et carbamazépine présentent des rapports proches de 1.

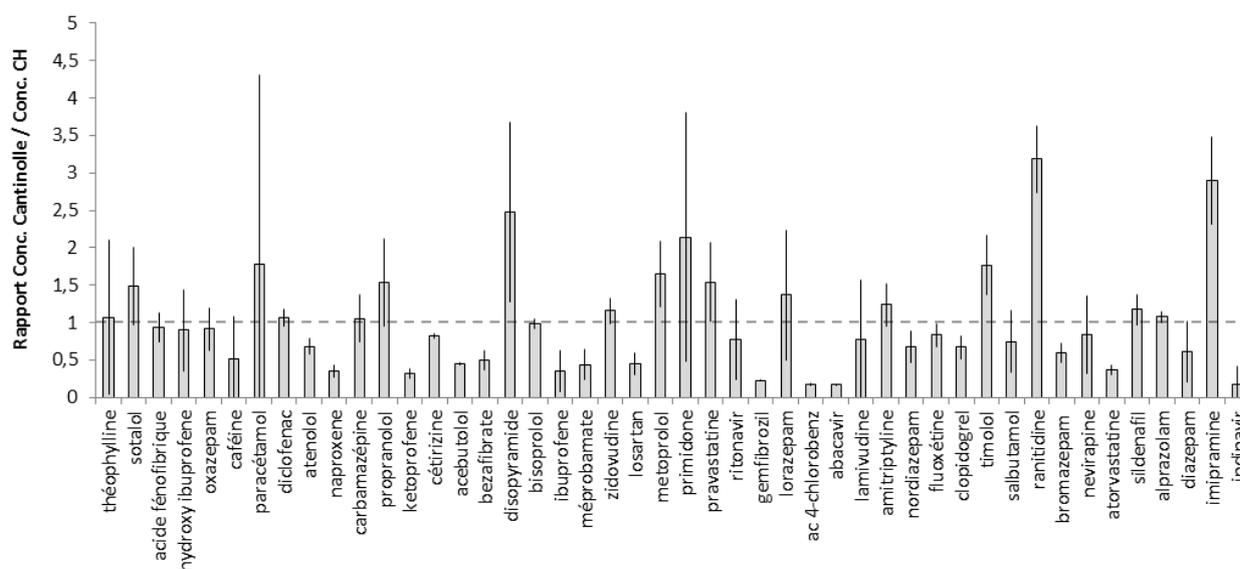


Figure 132. Rapport des concentrations de sortie Cantinolle sur Clos de Hilde. Moyenne des deux prélèvements de Cantinolle rapportés à la valeur moyenne mesurée en sortie de Clos de Hilde pour l'intégralité du suivi (cf. chapitre 4.1, section 1.2.1). n=2.

b) Par échantillonnage passif

Sur les 44 molécules calibrées, 35 molécules sont détectées à l'amont et 38 aux points 1 km et 9 km (Figure 133). Les analytes non détectés aux 3 points sont nelfinavir, saquinavir, zidovudine, clonazépam, doxépine et clenbuterol. Par comparaison au prélèvement ponctuel, de 1 à 8 molécules ont été détectées en plus (ritonavir, bromazépam, alprazolam, diazépam, lorazépam, pravastatine, atorvastatine, primidone), ce qui est particulièrement intéressant au point amont, le plus dilué.

		abacavir	indinavir	lamivudine	nelinavir	névirapine	ritonavir	saquinavir	zidovudine	bromazépam	nordiazépam	alprazolam	diazépam	oxazépam	lorazépam	clonazépam	iméprobamate	kétoprofène	naproxène	diclofénac	ibuprofène	hydroxy ibuprofène	paracétamol	gemfibrozil	bézafrilate	ac. 4-chlorobenz	acide fénofibrique	acide clofibrrique	pravastatine	atorvastatine	atémolol	bisoprolol	métoprolol	propranolol	sotalol	timolol	acébutolol	imipramine	doxépine	amitriptyline	fluoxétine	primidone	carbamazépine	cétirizine	ranitidine	clenbuterol	caféine	théophylline	sidénafil	losartan	salbutamol	clopidogrel	terbutaline	disopyramide	%												
amont	POCIS	X	/	/	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	/	/	X	X	/	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	80												
	ponctuel	X	X	X	X				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	86										
1 km	POCIS	X	/	/	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	/	/	X	X	/	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	86									
	ponctuel	X	X	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	85								
9 km	POCIS	X	/	/	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	/	/	X	X	/	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	86							
	ponctuel	X	X	X	X	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	81

Figure 133. Comparaison des molécules détectées par POCIS et par prélèvement ponctuel aux 3 points communs aux deux échantillonnages. Les molécules non calibrées dans les POCIS sont indiquées par un « / ». Le pourcentage dans la dernière case est rapporté au nombre de molécules détectables (53 en ponctuel, 44 pour les POCIS).

2.1.2 Etude des variabilités par point de prélèvement

a) Par prélèvement ponctuel

L'analyse en composantes principales des concentrations relevées sur les 7 points lors des 2 campagnes est présentée Figure 134. Les 35 molécules détectées dans tous les échantillons ont été choisies comme variables. A l'exception de la caféine, elles contribuent toutes dans le même sens à la définition de l'axe principal, signifiant que leurs évolutions de concentration sont toutes en phase. Sur le plan des individus, les échantillons de décembre 2011 et ceux de juillet 2012 sont séparés par un axe, matérialisé en pointillés sur l'ACP, ce qui traduit des spécificités par molécule ou par point de prélèvement propres à chaque campagne. Les points de prélèvement reliés par une flèche en pointillés (amont, non impacté, 4 km, 9 km) affichent des coordonnées suivant cet axe similaires entre décembre et juillet. En revanche, les points reliés par une flèche pleine (30 m, 2 km et dans une bien moindre mesure 1 km) sont dissemblables entre les 2 campagnes. L'ACP montre que les concentrations sont globalement plus élevées en juillet 2012 qu'en décembre 2011, mais que ces augmentations ne sont pas identiques pour tous les points, 30 m et 2 km affichant les plus fortes hausses.

A titre d'exemple, le profil longitudinal est donné pour l'oxazépam et l'acide fénofibrique en décembre 11 et juillet 12 Figure 135, ces profils étant représentatifs de la majorité des comportements observés.

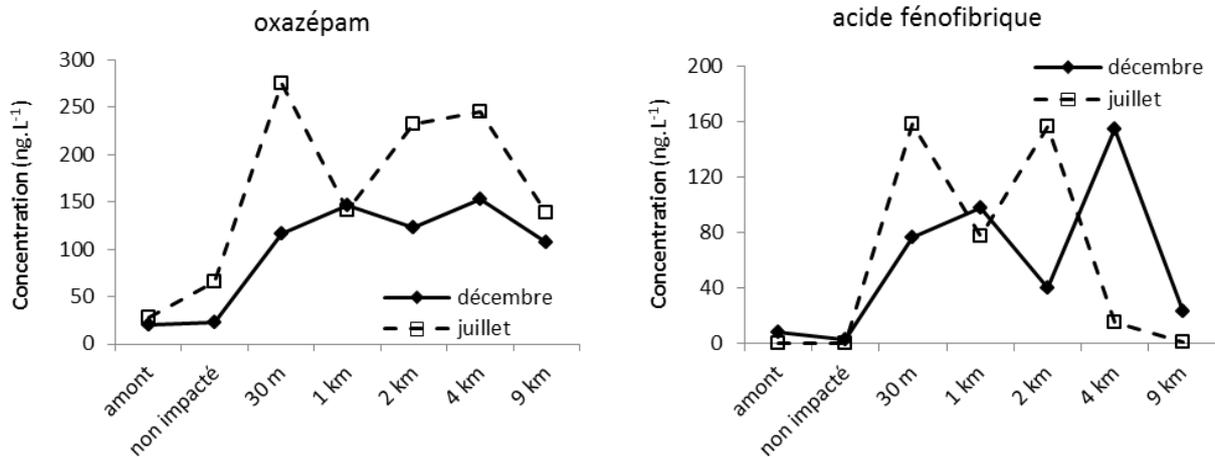


Figure 135. Profils longitudinaux des concentrations en oxazépam et acide fénofibrique dans la phase dissoute.

Les concentrations amont ne sont pas nulles mais approximativement 5 à 10 fois plus faibles que les concentrations après rejet. Sur le bras de la Jalle non impacté par le rejet de la STEP Cantinolle, les concentrations sont similaires à celles du point amont. En décembre 2011, une augmentation des concentrations est observée entre 30 m et 1 km, attribuée à l'inhomogénéité de l'effluent dans la rivière (le prélèvement ayant lieu sur la rive opposée à l'émissaire du rejet). Ce n'est pas le cas en juillet 2012, les plus faibles débits de la rivière étant supposés entrainer un meilleur mélange. En décembre 2011, l'augmentation globale des concentrations au point 4 km, particulièrement remarquable sur les molécules les plus labiles (ici, l'acide fénofibrique), suggère un apport d'origine inconnue ou un défaut d'homogénéité des masses d'eau, celui-ci étant peu probable en raison des ouvrages construits favorisant le brassage des eaux, en particulier un moulin au point 1 km. La non détection de paracétamol au point 4 km, identifié précédemment comme traceur d'effluents non traités, invalide l'hypothèse d'une source d'eaux résiduaire brutes. En juillet 2012, une augmentation des concentrations est également détectée, mais au point 2 km. Ces variations des concentrations, attribuées à des apports diffus non identifiés limitent l'interprétation d'atténuation éventuelle des concentrations après rejet. Cependant, il est possible d'accéder à une dégradabilité relative entre deux molécules en comparant la décroissance pour deux sites proches. A titre d'exemple, en décembre 11, la concentration de l'oxazépam a diminué de 16 % entre le point 1 km et 2 km contre 58 % pour l'acide fénofibrique.

Contrairement à la majorité des molécules, des concentrations similaires en méprobamate, ibuprofène, paracétamol (uniquement décembre 2011), acide clofibrique, caféine et théophylline sont mesurées entre l'amont et l'aval du rejet de la STEP pour les 2 campagnes. Cela signifie, pour ces molécules, que l'apport de Cantinolle est négligeable par rapport à l'apport amont, ce constat étant confirmé par la non détection d'acide clofibrique dans l'effluent. Une autre STEP située à plus de 10 km en amont sur la commune de Saint-Jean d'Illac pourrait être responsable de ces apports.

b) Par échantillonnage passif

Les rapports de concentrations équivalentes mesurées par POCIS entre les points de prélèvement renseignent sur l'évolution de la contamination du système entre ces points. Le rapport du point 1 km au point amont et celui du point 9 km au point 1 km sont examinés Figure 136 et Figure 137.

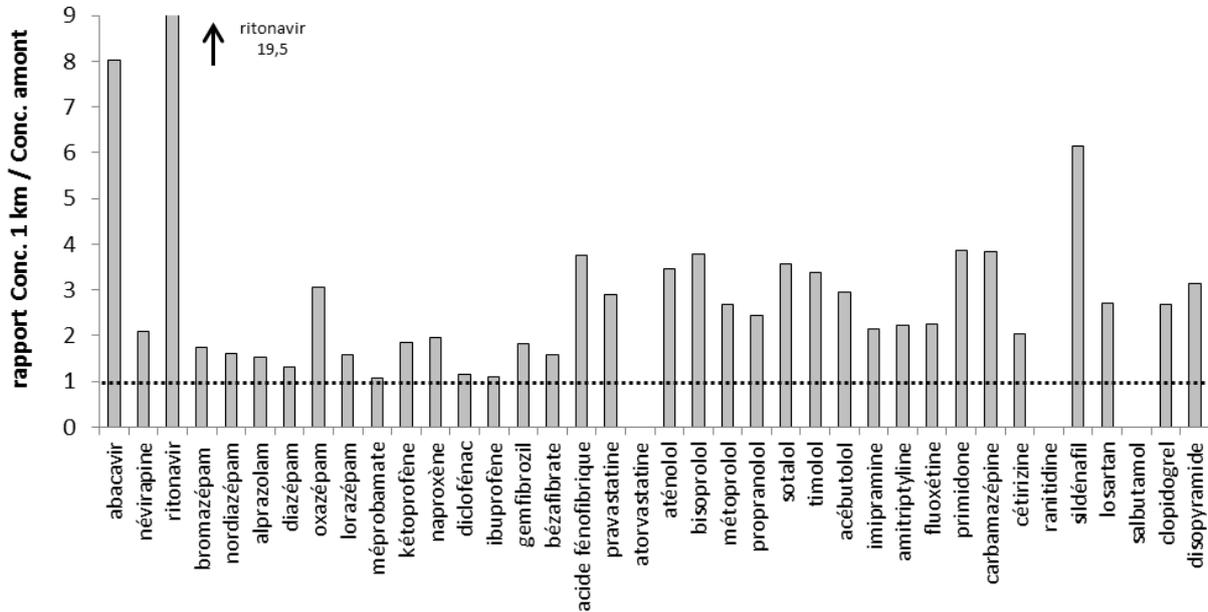


Figure 136. Rapport des concentrations équivalentes mesurées par POCIS entre le point 1 km et le point amont. Atorvastatine, ranitidine et salbutamol ne sont pas détectés à l'amont.

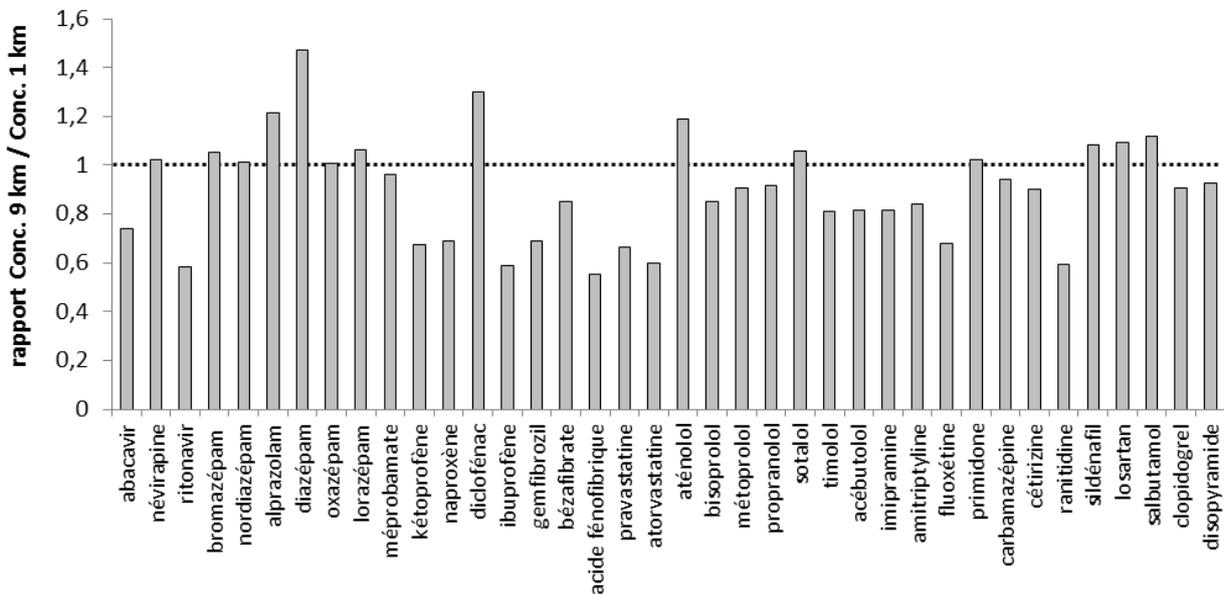


Figure 137. Rapport des concentrations équivalentes mesurées par POCIS entre le point 9 km et le point 1 km.

L'augmentation des concentrations entre l'amont et l'aval de la STEP est en moyenne de 3,2 pour la mesure par POCIS (contre 6,4 pour la mesure par prélèvement ponctuel le 12/12/11). Le ritonavir, l'abacavir et le sildénafil sont les 3 molécules au rapport le plus élevé, traduisant un apport STEP très majoritaire. Par ailleurs, les niveaux de concentration similaires entre l'amont et l'aval de la STEP en méprobamate et ibuprofène sont confirmés, indiquant une source majoritairement amont pour ces

molécules. Le diclofénac, au rapport de 3,9 pour le prélèvement ponctuel, ne présente pas d'augmentation entre l'amont et l'aval de la STEP pour une mesure par POCIS. L'interprétation des concentrations équivalentes en diclofénac dans les POCIS est néanmoins sujette à caution, des limitations liées à l'atteinte de l'équilibre pour cette molécule ont été rapportées dans le chapitre 3.2, section 2.2.

Le rapport des concentrations équivalentes entre le site 1 km et 9 km (Figure 137) vaut 0,9 en moyenne, avec des extremums selon les molécules à 0,6 et 1,5, ce qui montre une contamination globalement similaire entre ces deux points de prélèvement. Dans le détail, les molécules au rapport le plus faible, acide fénofibrique, ritonavir, ranitidine, ibuprofène, kétoprofène, naproxène, pravastatine et atorvastatine décrivent un comportement non conservatif, leur disparition de la phase dissoute étant attribuée soit à une dégradation soit à une adsorption au matériel particulaire. La dégradation *in-situ* sera étudiée en détail en section 2.4 de ce chapitre.

Les concentrations équivalentes mesurées par les POCIS du 12/12/11 au 12/01/12 ont été comparées aux concentrations mesurées par prélèvement ponctuel le 12/12/11 (Figure 138). Afin de s'affranchir d'éventuels biais de l'échantillonneur passif, la comparaison est restreinte aux molécules pour lesquelles l'expérience de validation *in-situ* a donné une concordance entre prélèvement ponctuel et échantillonnage passif comprise entre 0,8 et 1,2 (chapitre 3.2, section 2.2).

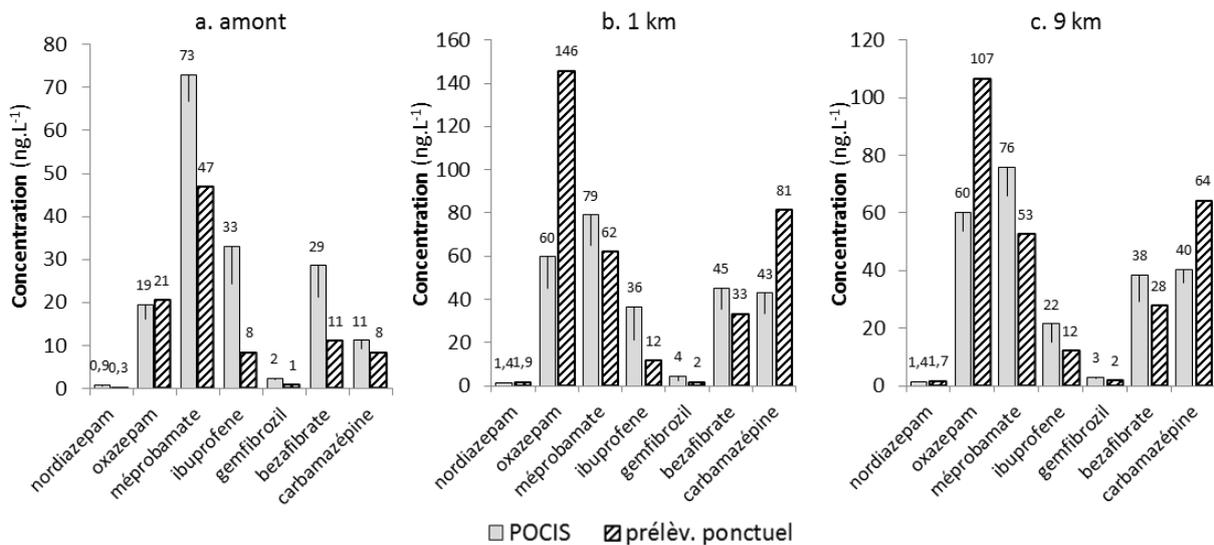


Figure 138. Comparaison des concentrations équivalentes mesurées par les POCIS du 12/12/11 au 12/01/12 aux concentrations mesurées par prélèvement ponctuel le 12/12/11. Restriction aux molécules ayant été validées dans un rapport compris entre 0,8 et 1,2 (chapitre 3.2, section 2.2). La représentation des écarts-types pour les POCIS est simplifiée à un simple trait afin de ne pas gêner la lecture.

Sur le mois échantillonné par POCIS, les concentrations équivalentes à l'amont (Figure 138.a) sont globalement supérieures à celles déterminées par prélèvement ponctuel du 12/12/11. Cela indique que les débits de la rivière ont été inférieurs (dilution) ou que les apports amont du mois échantillonné ont été supérieurs, hypothèse plus vraisemblable en raison de la pluviométrie élevée du mois échantillonné (cumul de 127 mm, données Météo France à Mérignac) qui a pu entraîner des déversements d'eaux brutes dans la Jalle.

En revanche, après rejet de la STEP (Figure 138.b et Figure 138.c), les concentrations mesurées par prélèvement ponctuel sont relativement supérieures aux concentrations équivalentes mesurées par POCIS pour plusieurs analytes. Compte tenu des observations à l'amont, ce résultat est attribué à un apport de l'effluent de sortie de Cantinolle supérieur le 12/12/11 à l'apport moyen lors du mois échantillonné. L'analyse des macropolluants suivis par l'exploitant dans le cadre de l'autosurveillance de la STEP (azote total et phosphore total) n'indique pas un apport supérieur le 12/12/11 par rapport au reste du mois de décembre 2012. L'hypothèse d'un dysfonctionnement de la STEP paraît alors improbable.

2.2 Contamination des particules

2.2.1 Concentrations en MES

Les concentrations en MES en décembre 2011 et juillet 2012 sont données Figure 139. En amont de la STEP et à plus de 1 km en aval du rejet, des concentrations proches de 10 mg.L^{-1} de MES sont mesurées. Les concentrations maximales sont atteintes immédiatement à l'aval avec plus de 10 fois la valeur amont. Les concentrations en MES de l'effluent étant en décembre 2011 et juillet 2012, de 7 et 14 mg.L^{-1} , respectivement, cette augmentation est imputable à une remise en suspension des particules de la Jalle due aux turbulences générées par ce flux latéral. Une hausse des MES est également observée aux points de prélèvement les plus aval. En comparaison à la Garonne estuarienne, ces concentrations sont jusqu'à 1000 fois inférieures aux valeurs mesurées dans le bouchon vaseux (cf. chapitre 1, section 7.6).

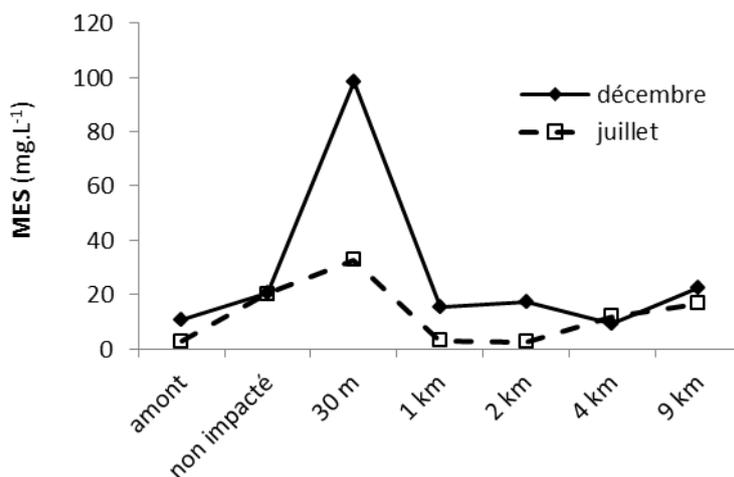


Figure 139. Concentrations en MES aux points de prélèvement de la Jalle.

2.2.2 Occurrence et variabilités par point de prélèvement

Dans les 14 échantillons de particules, 22 molécules sont détectées au moins une fois, dont 10 le sont systématiquement. L'étendue des concentrations moyennes va de la LD à près de 120 ng.g^{-1} poids sec (Figure 140).

A distance du rejet (9 km) en décembre 11, le classement des molécules par gammes de concentration est le suivant (concentrations décroissantes par classe) :

- > 10 ng.g⁻¹ (9) : propranolol, ritonavir, acébutolol, disopyramide, cétirizine, fluoxétine, sotalol, oxazépam, amitriptyline,
- < 10 ng.g⁻¹ (12) : méprobamate, carbamazépine, bisoprolol, métoprolol, acide fénofibrique, sildénafil, bézafibrate, imipramine, clopidogrel, losartan, nordiazépam, nelfinavir
- Non détectées (32) : abacavir, indinavir, lamivudine, névirapine, saquinavir, zidovudine, bromazépam, alprazolam, diazépam, lorazépam, clonazépam, kétoprofène, naproxène, diclofénac, ibuprofène, hydroxy-ibuprofène, paracétamol, gemfibrozil, ac. 4-chlorobenzoïque, acide clofibrique, pravastatine, atorvastatine, aténolol, timolol, doxépine, primidone, ranitidine, clenbuterol, caféine, théophylline, salbutamol, terbutaline.

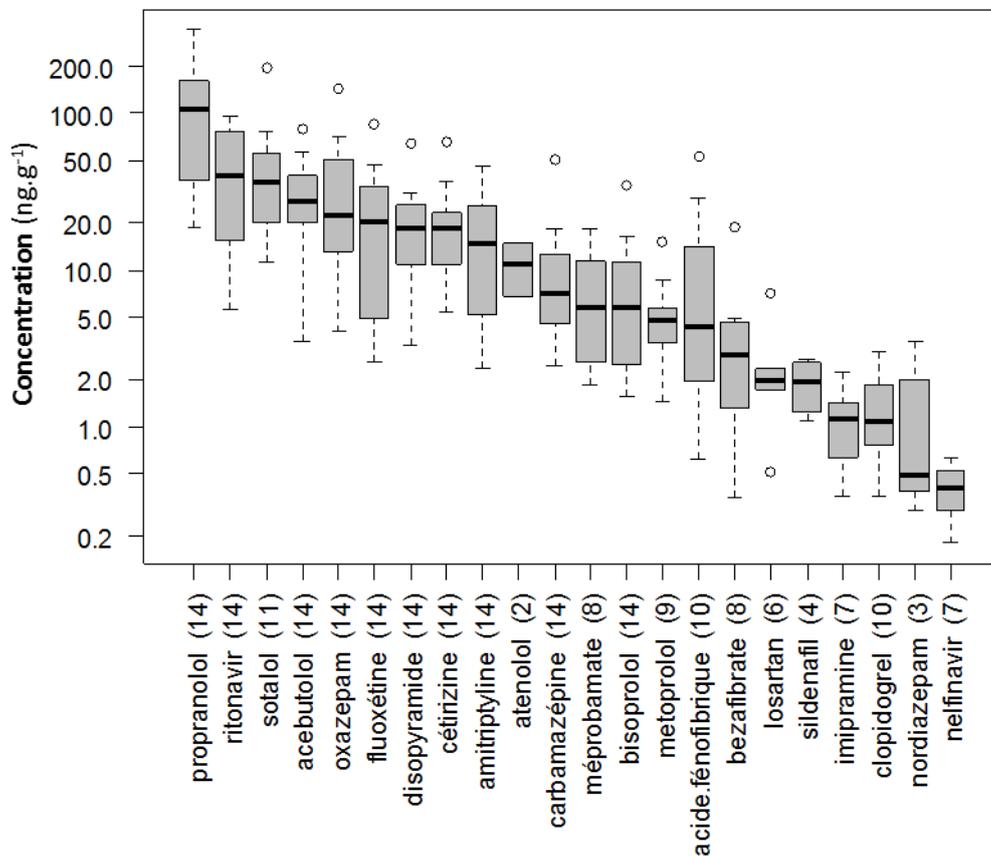


Figure 140. Concentrations mesurées sur les particules de la Jalle de Blanquefort. Le nombre d'observations par molécule est donné entre parenthèses.

Peu d'études ont rapporté des concentrations de pharmaceutiques en phase particulaire. Baker et Kasprzyk-Hordern (2011a) ont trouvé une adsorption significative sur les particules d'effluents urbains pour les antidépresseurs amitriptyline et fluoxétine ainsi que pour le sildénafil, observation en accord avec les mesures effectuées sur la Jalle de Blanquefort. Silva *et al.* (2011) ont mesuré des concentrations en pharmaceutiques de l'ordre du nanogramme par gramme à plusieurs centaines de nanogrammes par gramme dans des particules collectées dans l'Ebre, Espagne. La carbamazépine et

les β -bloquants aténolol et métoprolol y sont mesurés en phase particulaire à des concentrations similaires à celles mesurées dans la Jalle de Blanquefort, en moyenne entre 4 et 10 ng.g^{-1} (poids sec), quand le sotalol y est donné à 3 ng.g^{-1} (poids sec), contre 30 à 80 ng.g^{-1} (poids sec) selon la saison dans la Jalle de Blanquefort.

Les profils longitudinaux des concentrations particulières en oxazépam et acide fénofibrique sont donnés Figure 141.

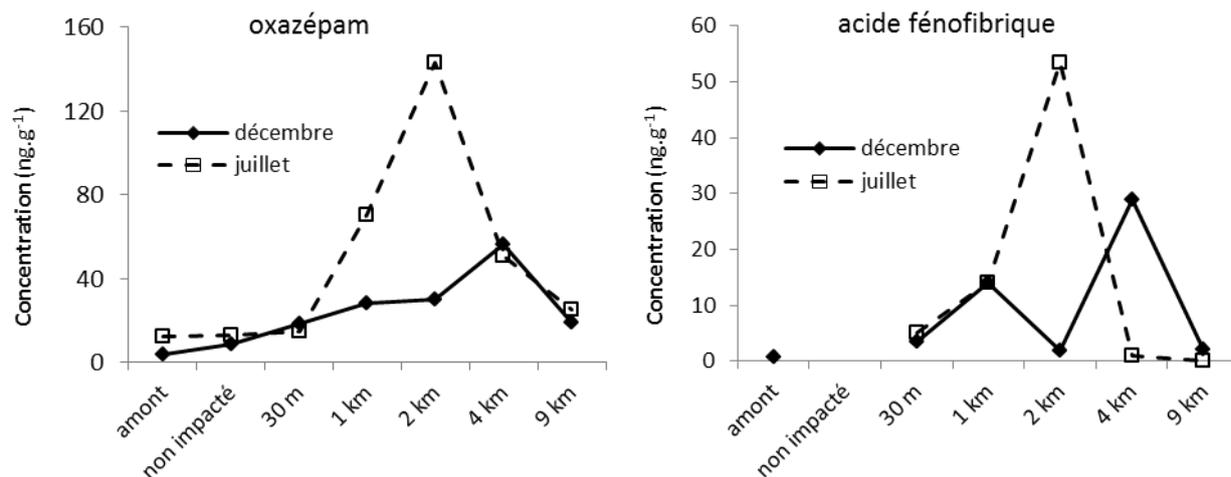


Figure 141. Profils longitudinaux des concentrations en oxazépam et acide fénofibrique dans la phase particulaire.

Les profils présentent plusieurs similarités avec ceux établis pour la phase dissoute. Les concentrations à l'amont sont faibles, voire inférieures aux LQ (acide fénofibrique en juillet). Comme pour la phase dissoute, une augmentation des concentrations est observée au point 4 km en décembre 2011 et au point 2 km en juillet 2012, cela confirme l'hypothèse d'un apport non identifié en ces points. En revanche, les augmentations de concentration entre l'amont et l'aval direct sont plus faibles pour la phase particulaire que pour la phase dissoute, celles-ci étant plus notables entre les points 30 m et 1 km. La cinétique du transfert vers les particules pourrait expliquer ce résultat ; celle-ci peut en effet être relativement lente (D. Liu *et al.*, 2013) et des temps de demi-réaction d'adsorption de plusieurs heures ont été mesurés pour l'oxazépam et le sotalol (Burke *et al.*, 2013). Les temps de transit entre les points 30 m et 1 km étant de l'ordre de l'heure, la situation au point 30 m pourrait être une situation hors équilibre thermodynamique entre phase dissoute et particulaire, contrairement au point 1 km.

Concernant les particules de l'effluent de sortie de la STEP Cantinolle, de 26 à 29 molécules sont détectées selon les campagnes (Figure 142). Le classement des molécules diffère de celui observé dans la Jalle, avec des molécules plus hydrophiles (hydroxy-ibuprofène, acide fénofibrique, naproxène) montrant de plus fortes concentrations relatives : l'acide fénofibrique est par exemple la 4^{ème} molécule la plus concentrée sur les particules de STEP en décembre 11 (/26) alors qu'elle la 15^{ème} (/22) sur les particules de la Jalle.

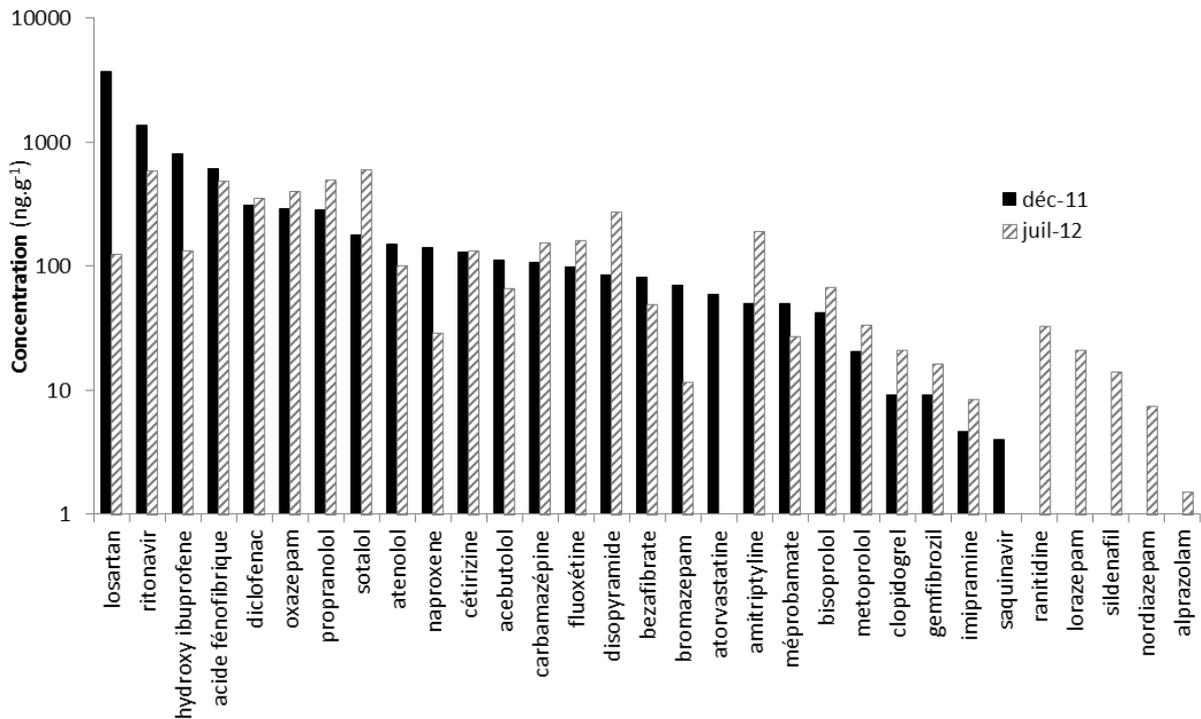


Figure 142. Concentrations mesurées sur les particules de l’effluent de la STEP Cantinolle.

2.2.3 Partition dissous-particulaire

La Figure 143 présente, pour 4 molécules-traceurs, la proportion fixée sur les particules aux différents points de prélèvement de la Jalle. Les pourcentages sont souvent faibles, moins de 2 %, mais peuvent atteindre 16 % pour le propranolol. En décembre 2011, le point 30 m se distingue par des proportions élevées sur les particules, qui se stabilisent aux points suivants à des valeurs de l’ordre de celles mesurées à l’amont. Ce comportement, qui n’est pas observé en juillet, peut être imputable aux teneurs en MES élevées mesurées à ce point. En outre, la partition est plus en faveur des particules au point non impacté par rapport à l’amont, résultat pouvant être expliqué par la composition des particules, en particulier leur teneur en carbone organique. Silva *et al.* (2011) ont en effet observé une bonne corrélation entre fortes concentrations en médicaments et fortes teneur en carbone organique sur les particules prélevées dans l’Ebre, en Espagne.

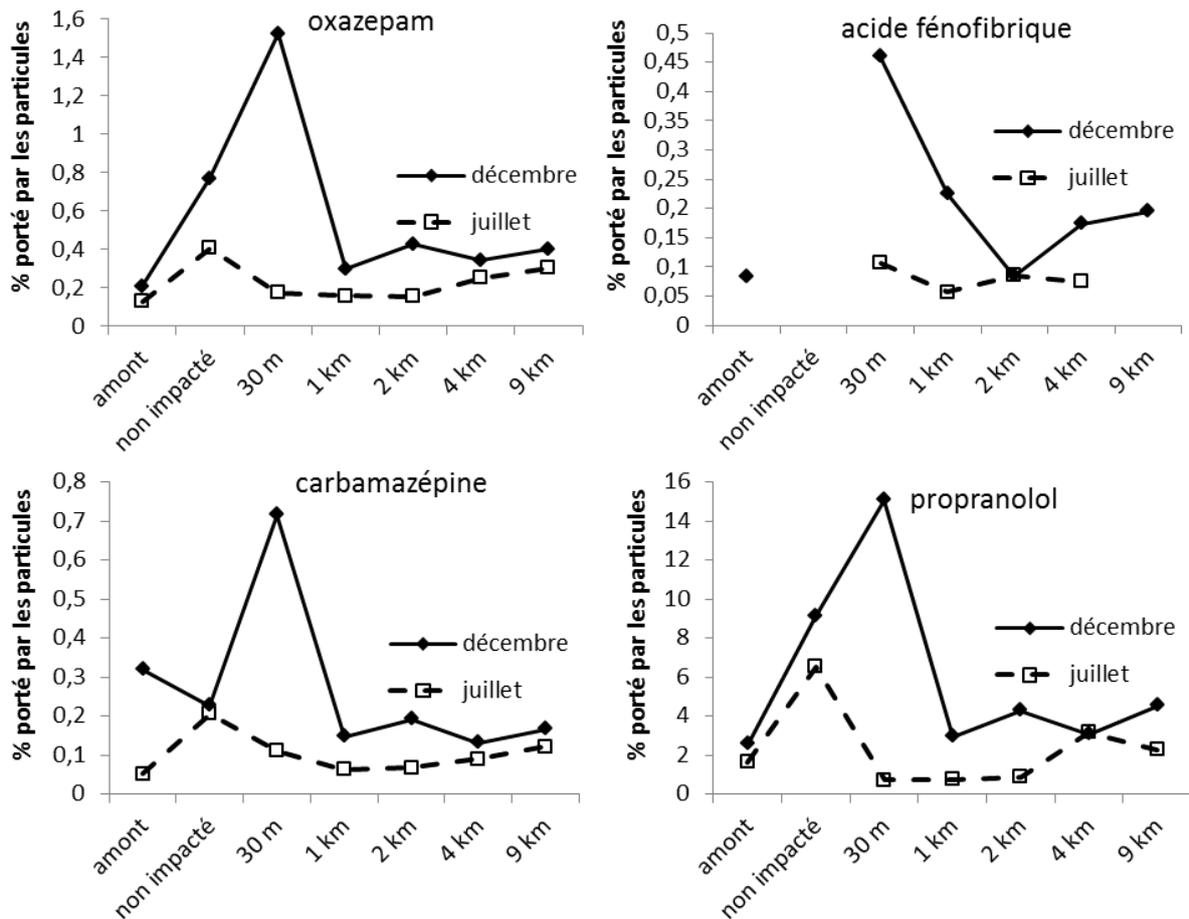


Figure 143. Profil des pourcentages de composé porté par la phase particulaire compte tenu des MES et des concentrations dans les phases dissoute et particulaire. Noter les valeurs absentes pour l'acide fénofibrique en raison de sa non détection dans l'une des phases.

Pour l'intégralité des molécules détectées en phases dissoute et particulaire, la moyenne des pourcentages de médicaments portés par la phase particulaire est calculée sur les points 1, 2, 4 et 9 km aux deux campagnes. Ces résultats, ainsi que ceux des effluents de la STEP, sont présentés dans le Tableau 75. La majorité des médicaments présentent une faible affinité pour la phase particulaire, inférieure à 5 %. Les ritonavir, fluoxétine, amitriptyline et sildénafil présentent une proportion moyenne de composé porté par la phase particulaire supérieure, pouvant atteindre 38 % dans le cas du ritonavir. Les différences saisonnière sont marquées, avec un facteur moyen de 2 toutes molécules confondues dans la Jalle. La baisse de la proportion observée entre décembre et juillet est attribuée à l'augmentation d'environ 10 °C de la température de l'eau. Plusieurs études ont en effet montré que le coefficient de partage entre phases dissoute et particulaire est inversement corrélé avec la température de l'eau (Bergen *et al.*, 1993 ; Smith et McLachlan, 2006).

Concernant la proportion portée par les particules dans les effluents de STEP, un biais pourrait résulter de la conservation pendant 24 h de l'échantillon composite à 4 °C dans le préleveur automatique, les températures basses favorisant la partition vers la phase particulaire. Ainsi, il est fait l'hypothèse que les proportions mesurées en sortie de STEP et données dans le Tableau 75 sont

des valeurs maximales. Entre la rivière et l'effluent, les affinités relatives pour la phase particulaire sont respectées mais l'absence de réplicats en STEP ne permet pas une analyse plus fine.

Tableau 75. Pourcentage de composé porté par la phase particulaire (%). n=4 (Jalle).

Analytes	Jalle		STEP	
	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12
ritonavir	38 ± 18	4 ± 3	14	5,0
saquinavir	-	-	13	-
bromazépam	-	-	6,1	1,7
nordiazépam	-	-	-	0,5
alprazolam	-	-	-	0,5
oxazépam	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2	0,4
lorazépam	-	-	-	0,5
méprobamate	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1	0,3
naproxène	-	-	0,1	0,1
diclofénac	-	-	0,3	0,5
hydroxy-ibuprofène	-	-	0,2	0,2
gemfibrozil	-	-	0,2	0,6
bézafibrate	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1	0,2
acide fénofibrique	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2	0,3
atorvastatine	-	-	6,2	-
aténoïol	-	-	0,1	0,2
bisoprolol	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1	0,3
metoprolol	0,5 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,1	0,3
propranolol	3,7 ± 0,8	1,8 ± 1,2	0,5	1,1
sotalol	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1	0,3
acébutolol	1 ± 0,4	0,5 ± 0,3	0,2	0,2
imipramine	7,8 ± 4,3	-	2,2	6,2
amitriptyline	20 ± 10	9 ± 6	1,8	9,9
fluoxétine	28 ± 15	14 ± 8	4,3	11
carbamazépine	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1	0,3
cétirizine	0,7 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,2	0,4
ranitidine	-	-	-	4,7
sildénafil	5,6 ± 2,2	-	-	3,9
losartan	0,15 ± 0,07	-	16	0,9
clopidogrel	0,71 ± 0,14	1,1 ± 0,7	0,5	1,6
disopyramide	1,4 ± 0,5	0,4 ± 0,4	0,2	0,8

2.2.4 Estimation des coefficients de partage

Le coefficient de partage entre l'eau et la phase solide, défini par la relation : $\log(K_d) = \log \frac{C_{matrice\ solide}}{C_{eau}}$ a été déterminé (Figure 144). Seules les molécules détectées à la fois dans l'eau et les particules de la Jalle sont représentées.

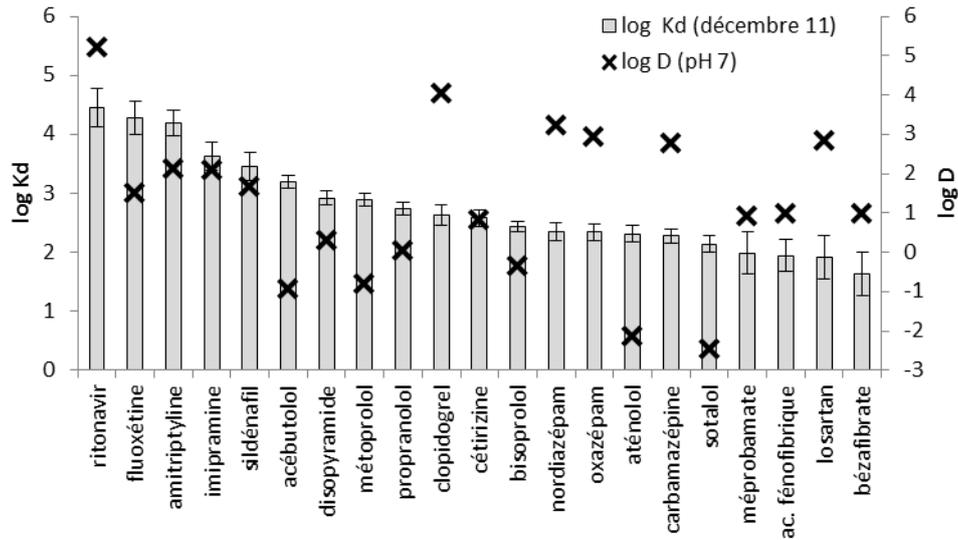


Figure 144. Coefficient de partage moyen eau-matrice solide calculé aux points aval du rejet lors de la campagne de décembre (n=5) et coefficient de partage octanol-eau ajusté à pH 7 (log D).

La relation entre $\log K_d$ et $\log D$ n'est pas évidente, d'autant plus que certains composés à $\log D$ négatif (acébutolol, -0,95) ont une affinité pour la phase particulaire supérieure à des composés théoriquement plus hydrophobes (carbamazépine, 2,77). D'après Silva *et al.* (2011), les molécules basiques, protonées au pH des eaux naturelles, sont plus susceptibles de s'adsorber aux particules. C'est effectivement ici le cas des 3 antidépresseurs (fluoxétine, amitriptyline, imipramine), des β -bloquants, de la disopyramide, mais pas par exemple des ritonavir, sildénafil ou clopidogrel, qui sont présents sous forme neutre à pH 7. L'importance des processus d'échange cationique sur l'adsorption des β -bloquants au sédiment a été mise en évidence par Schaffer *et al.* (2012). Sathyamoorthy et Ramsburg (2013) ont suggéré que l'adsorption des micropolluants organiques était non seulement gouvernée par des paramètres propres aux analytes mais également par les diverses caractéristiques de l'adsorbant, comme sa teneur en carbone organique, en hydrogénocarbonates, en protéines... La partition observée est complexe, son explication pourrait être envisagée par des études de modélisation moléculaire prenant en compte les fonctions chimiques de chaque molécule individuellement et leur interaction avec celles de la matière organique.

2.3 Contamination des sédiments

2.3.1 Granulométrie des sédiments

Les sédiments sont préalablement qualifiés par granulométrie à diffraction laser. A titre d'exemple, les profils de distribution pour 3 cas caractéristiques sont présentés Figure 145 : sédiment intermédiaire (a), sédiment vaseux (b), sédiment sableux (c).

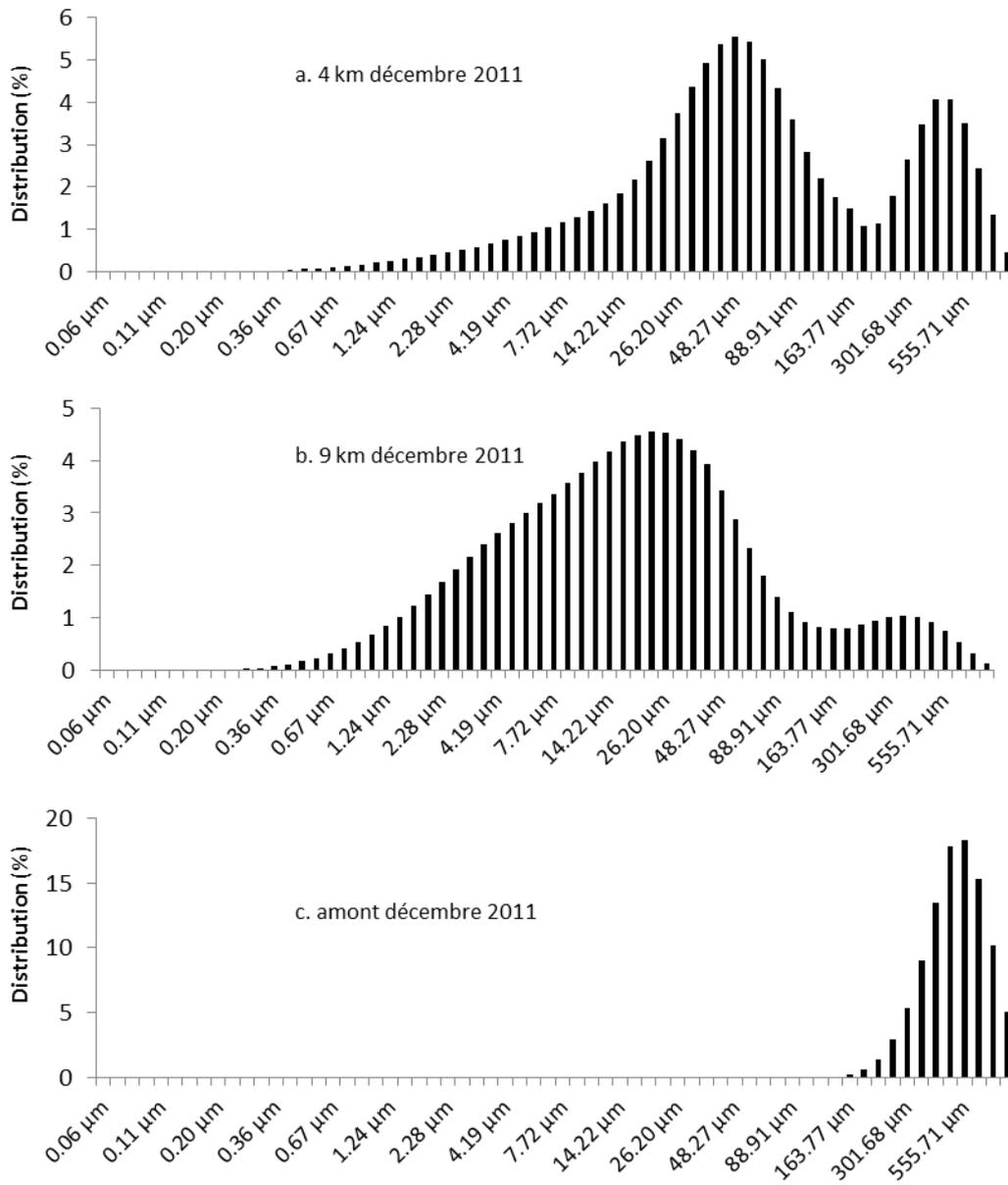


Figure 145. Distribution des tailles des éléments composant les sédiments de décembre 2011 des points 4 km (a), 9 km (b) et amont (c).

Le Tableau 76 donne le pourcentage de vase contenu dans chaque sédiment, c'est-à-dire le pourcentage cumulé d'éléments à granulométrie inférieure à 63 µm (Allen, 1972).

Tableau 76. Pourcentage de vase contenu dans chaque sédiment (%).

Point	déc-11	juil-12
amont	0	4
non impacté	60	28
30 m	11	8
1 km	3	5
2 km	8	54
4 km	53	49
9 km	82	57

Les points les plus vaseux sont situés à 4 et 9 km ainsi que sur le bras non impacté. Les compositions en vase sont du même ordre de grandeur aux 2 campagnes, à l'exception du point 2 km, 7 fois plus vaseux en juillet 12.

2.3.2 Occurrence et variabilités par point de prélèvement

Par échantillon, de 13 à 30 molécules sont détectées, de la LD à près de 150 ng.g^{-1} poids sec (Figure 146) et 35 molécules sont détectées au moins une fois.

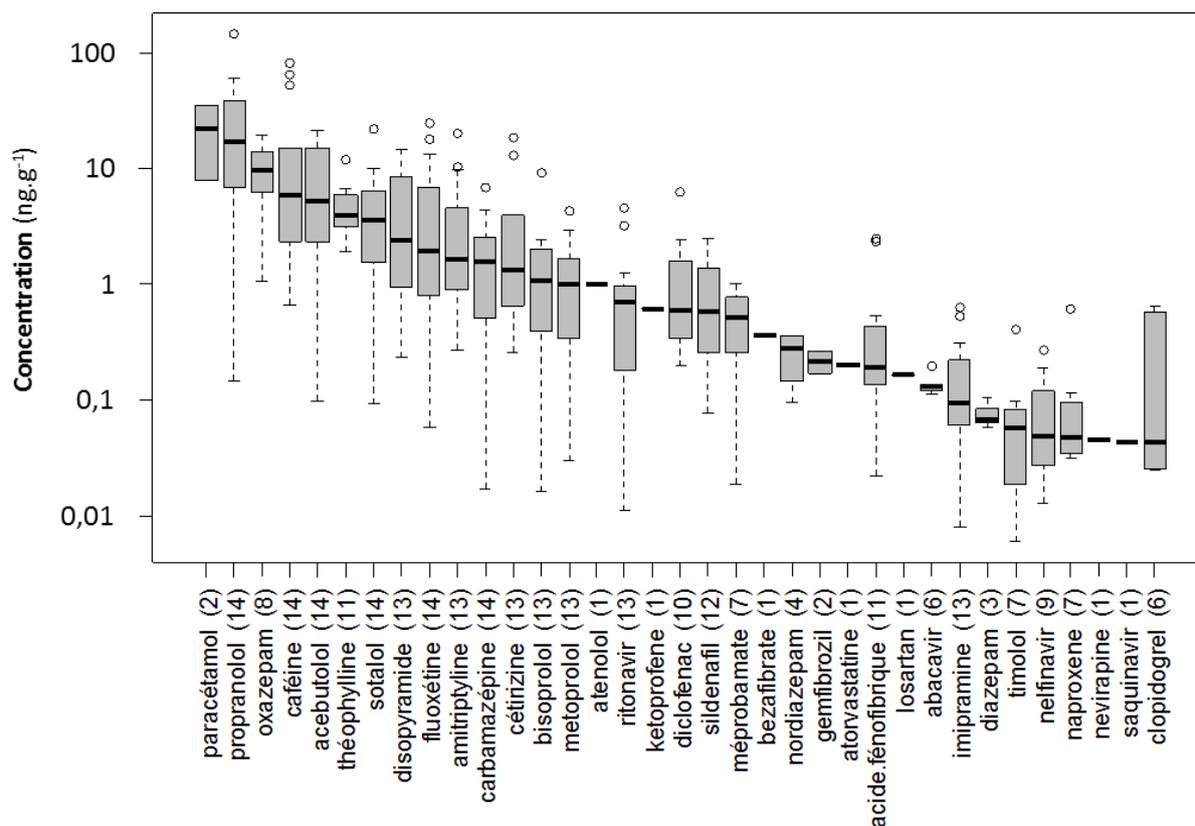


Figure 146. Concentrations mesurées dans les sédiments de la Jalle de Blanquefort. Le nombre d'observations par molécule est donné entre parenthèses.

Les niveaux de concentration sont globalement inférieurs à ceux observés dans les matières en suspension et la dispersion est élevée, jusqu'à trois ordres de grandeur pour certaines molécules. Les β -bloquants (en particulier propranolol), les antidépresseurs, caféine, oxazépam, cétirizine et disopyramide sont quantifiés aux plus fortes concentrations. La fluoxétine a été mesurée à des concentrations équivalentes ($\approx 10 \text{ ng.g}^{-1}$ poids sec) dans les sédiments de rivière au Colorado, Etats-Unis, pour une concentration en phase dissoute légèrement supérieure à celle mesurée dans la Jalle (Schultz *et al.*, 2010). Des concentrations supérieures en β -bloquants, de l'ordre de $20\text{-}30 \text{ ng.g}^{-1}$ poids sec, ont été rapportées dans les sédiments de rivières allemandes fortement impactées par des rejets urbains (Ramil *et al.*, 2010). La contamination globale de sédiments marins prélevés dans la Baie d'Auckland, Nouvelle-Zélande, est rapportée plus faible que dans la Jalle de Blanquefort, même

si les paracétamol, naproxène, ranitidine, clenbuterol et salbutamol, molécules considérées comme hydrophiles, y ont été détectées (Stewart *et al.*, 2014).

A titre d'exemple, les profils longitudinaux des concentrations pour quatre molécules, l'oxazépam, l'acide fénofibrique, la carbamazépine et le propranolol dans le sédiment sont donnés Figure 147.

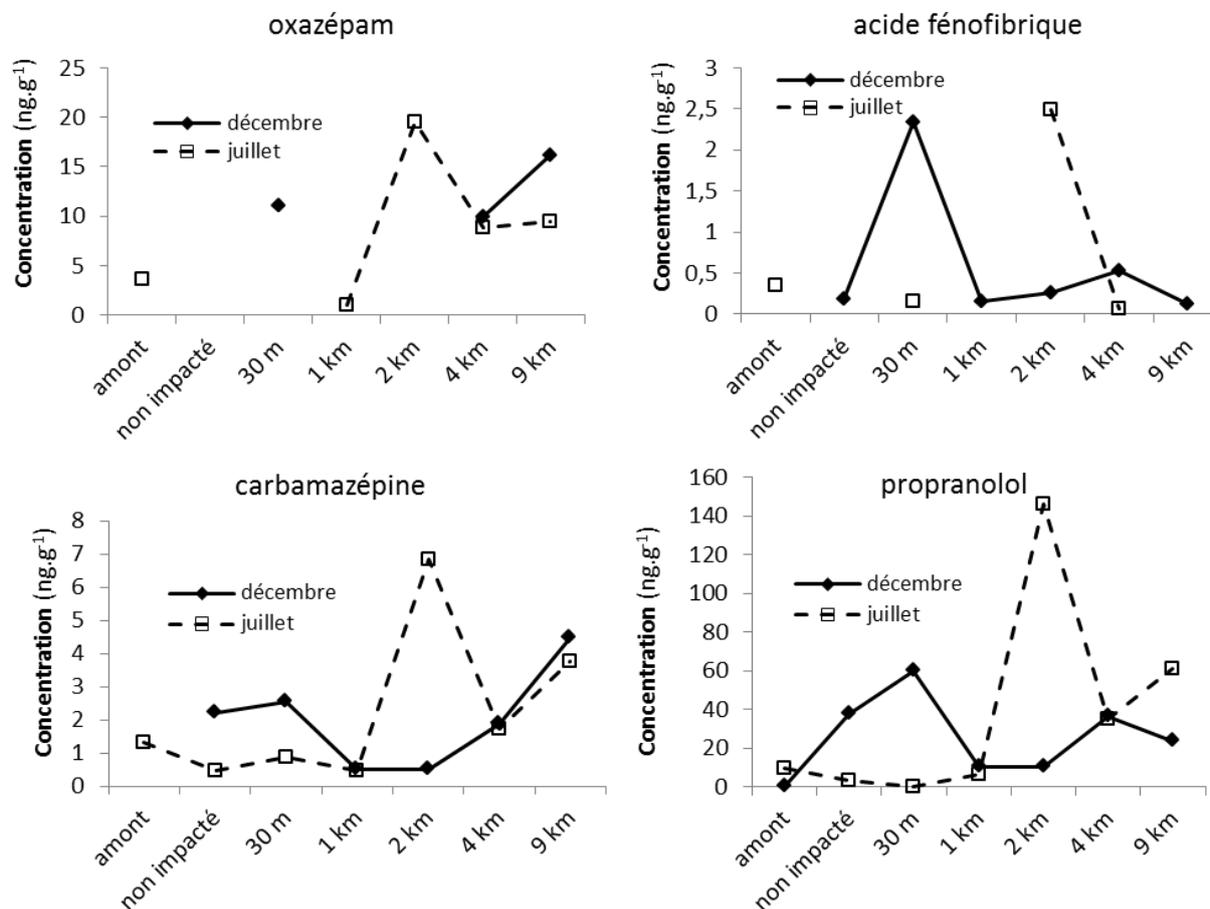


Figure 147. Profils longitudinaux des concentrations dans le sédiment.

En décembre 2011, la contamination est globalement supérieure au point 30 m tandis qu'en juillet 2012 le point 2 km présente les concentrations maximales. La distribution des concentrations après rejet ne suit pas celle observée pour l'eau ou les particules, cela étant attribué aux compositions variables du sédiment, notamment en éléments fins. Les travaux de Ramil *et al.* (2010) ont en effet mis en évidence le rôle de teneurs élevées en carbone organique ainsi que d'une distribution importante en éléments fins comme des facteurs favorisant l'adsorption des β -bloquants étudiés.

Afin de corriger ces variations, les concentrations sont rapportées au pourcentage de vase contenu par le sédiment. Les profils obtenus pour les mêmes molécules sont donnés Figure 148.

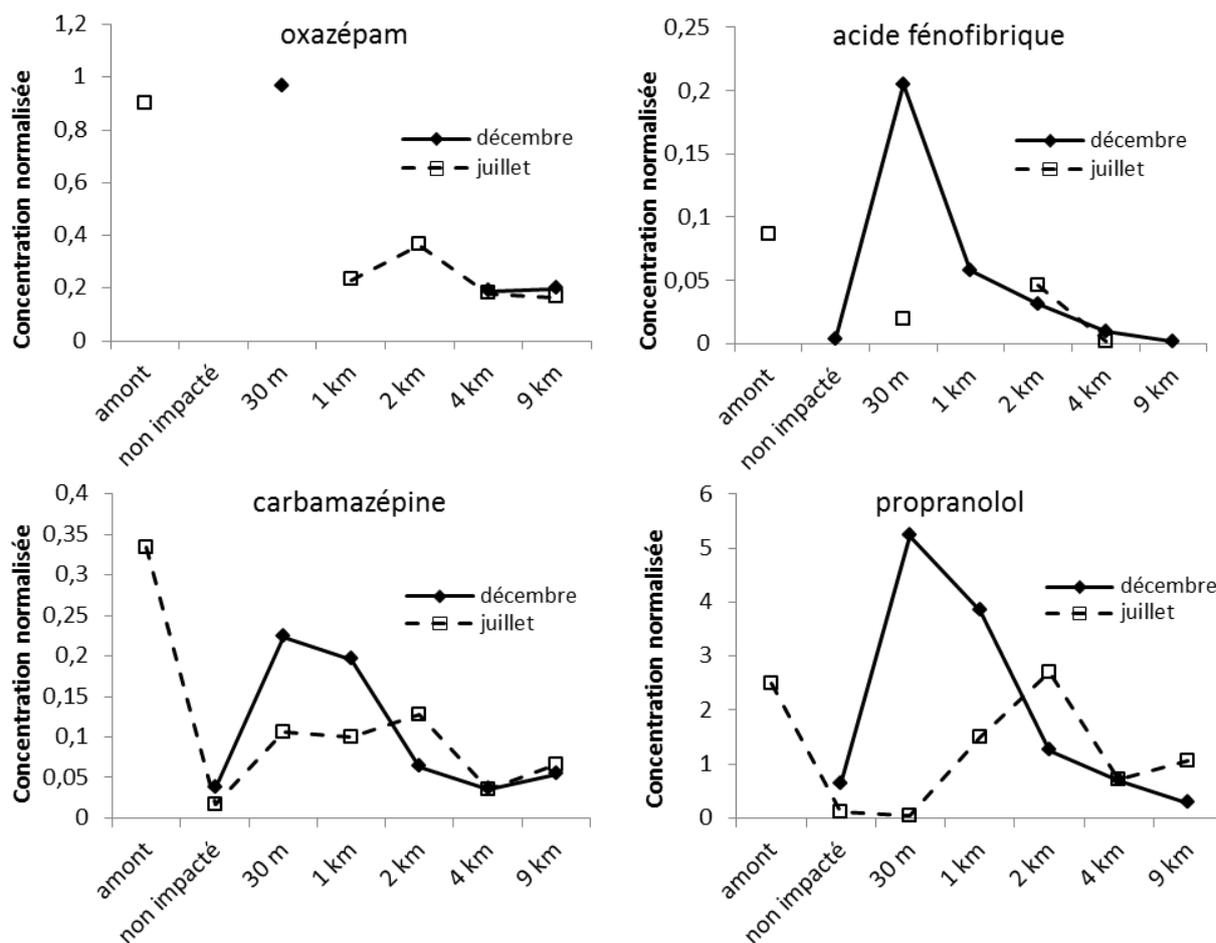


Figure 148. Profils longitudinaux des concentrations normalisées par le pourcentage de vase contenue dans le sédiment.

En raisonnant sur le pourcentage de particules fines, des concentrations maximales sont observées en décembre en aval du rejet, décroissant progressivement à mesure que l'on s'en éloigne. En juillet, ce constat est moins évident. Des valeurs élevées, non représentatives de la contamination du point amont, sont obtenues en raison des très faibles proportions de vase composant le sédiment.

Néanmoins, ce calcul repose sur le pourcentage de vase, calculé sur la proportion d'un nombre d'éléments constituant le sédiment et non sur la proportion de leur masse, ou mieux, de leur surface spécifique, l'un des paramètres gouvernant les facultés d'adsorption d'un matériau. En outre, la détermination du carbone organique pourrait apporter une information complémentaire sur le pouvoir adsorbant du sédiment.

2.4 Etude de la conservativité des analytes

L'objectif de cette partie est de comparer les flux théoriques à l'aval du rejet de la STEP calculés par somme des sources amont et STEP aux flux effectivement mesurés à l'aval (flux dissous et particulaire), tels que représentés Figure 149. Les flux sont calculés par produit du débit et des concentrations à chaque point considéré. Le débit amont et le débit du rejet de la STEP sont directement mesurés sur une échelle limnimétrique, le débit aval étant la somme de ces deux débits.

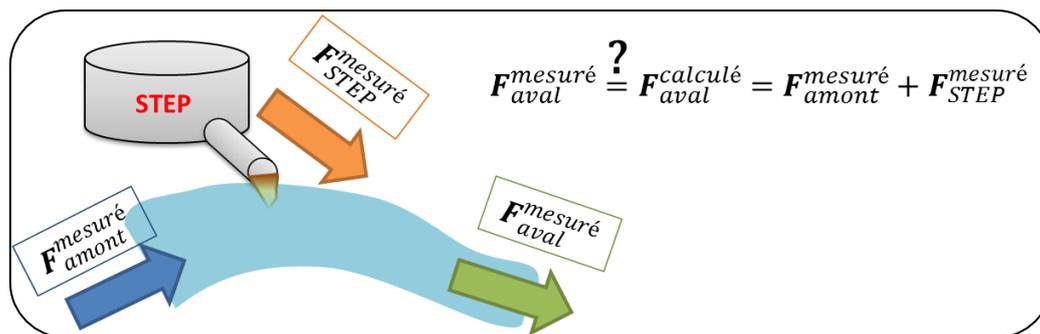


Figure 149. Schéma représentatif des calculs de flux conduits dans la Jalle. Le flux F est le flux d'une molécule donnée.

Dans un premier temps, la comparaison des flux aval calculés et mesurés porte sur une sélection de molécules, en distinguant la source dissoute ou particulaire (Figure 150).

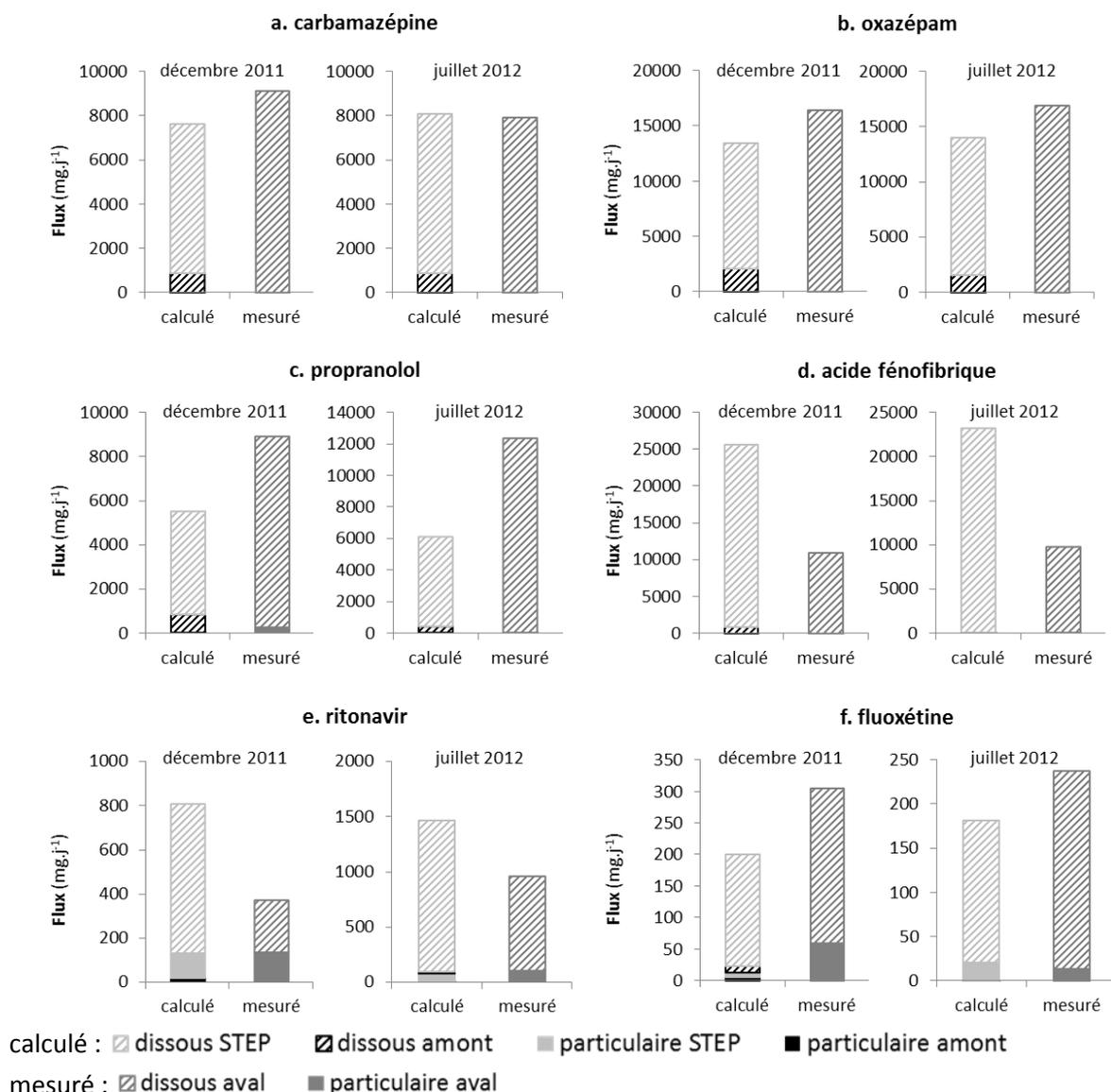


Figure 150. Flux calculé et mesuré pour une sélection de molécules aux 2 campagnes. Le point aval est pris au point 1 km pour la campagne de décembre 2011 et au point 30 m pour la campagne de juillet 2012 afin de se placer aux concentrations maximales après rejet.

Comme il a été déterminé précédemment, la phase particulaire représente une faible proportion de la fraction totale pour une majorité de molécules. L'apport de la STEP est largement majoritaire puisqu'il contribue au minimum à 85 % (oxazépam en décembre 11) à la contamination de la Jalle en aval du rejet. En comparant le flux calculé au flux mesuré, les tendances suivantes sont observées selon les molécules : 1) une adéquation à 20 % près (carbamazépine, oxazépam) ; 2) une mesure inférieure à la valeur calculée (acide fénofibrique, ritonavir) ou 3) une mesure supérieure à la valeur calculée (propranolol, fluoxétine). La différence observée entre les deux premiers cas est attribuée à une différence de dégradabilité des molécules : l'acide fénofibrique et le ritonavir disparaissent rapidement alors que la carbamazépine et l'oxazépam sont conservatifs à cette échelle de temps. Compte tenu de la faible affinité de l'acide fénofibrique pour les particules, il est fait l'hypothèse que sa disparition est une réelle dégradation. Le cas du propranolol et de la fluoxétine sera discuté par la suite.

Dans un second temps, l'adéquation entre le flux mesuré à l'aval et le flux calculé à l'aval par somme des flux amont et STEP est présenté en pourcentage Figure 151, les molécules ayant été sélectionnées avec la même méthodologie que pour le calcul des rendements d'élimination en STEP (concentration supérieure à la LQ pondérée du facteur de robustesse f , décrit dans le chapitre 4.1, section 1.3.1). Une valeur inférieure à 100 % traduit un flux mesuré inférieur au flux prédit par le calcul.

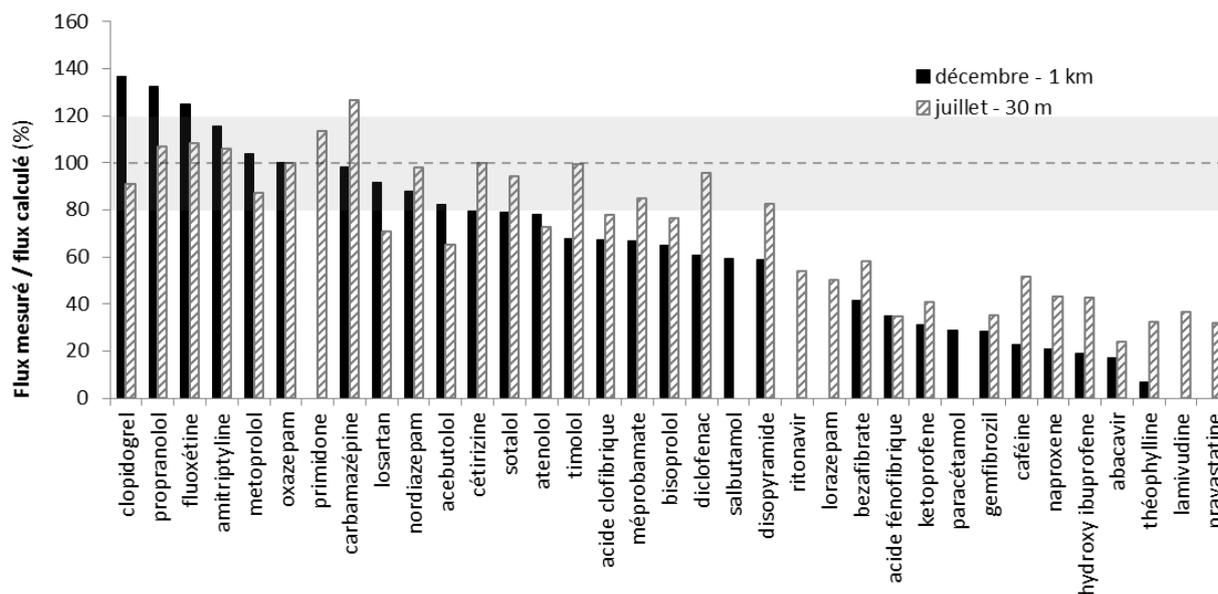


Figure 151. Adéquation entre flux aval mesuré et flux aval calculé pour les molécules détectées au-delà de leur LQ au facteur de robustesse f près. Les rapports de flux ont été ajustés à 100 % pour l'oxazépam (valeur non ajustée de 120 % aux 2 campagnes). La zone grisée représente une variabilité de 20 % autour de 100 %.

Les rapports de flux indiquent une différence de conservativité entre les analytes, globalement reproductible entre les deux campagnes. Plusieurs rapports de flux sont supérieurs en juillet, cela pouvant être expliqué par le choix d'un point plus proche du rejet pour le flux mesuré, point auquel la dégradation serait moins avancée. Seule la comparaison pour un même temps de résidence dans les eaux permettrait de renseigner la saisonnalité des taux de dégradation. Lors de la campagne de décembre, 5 molécules présentent un rapport de flux supérieur à 100 %, indiquant soit une

surestimation au point aval ou soit une sous-estimation des sources amont. Si la relation de cause à effet n'est pas établie, un coefficient de partage eau-matrice solide élevé a été mis en évidence pour ces analytes et une perte par adsorption pourrait être envisagée. Le prélèvement automatique en STEP a été validé précédemment, y compris pour ces molécules hydrophobes, et ne peut *a priori* pas être mis en cause en cas de sous-estimation de l'apport de STEP.

Ce résultat démontre l'existence d'une dégradation rapide dans le milieu puisqu'entre l'émissaire de sortie de la STEP et le point de prélèvement 30 m les temps de résidence estimés sont de l'ordre de la minute. L'échelle de conservativité ainsi obtenue permet de déterminer les molécules à la fois persistantes et celles qui sont dégradées, susceptibles de conduire à la formation de sous-produits.

L'étude de la contamination d'un site soumis à un rejet urbain, menée entre des points de prélèvement distants de 12,5 km par Kunkel et Radke (2012) a également mis en évidence l'existence d'une atténuation le long de la rivière. Une élimination variant de 25 % (sulfaméthoxazole) à 70 % (diclofénac, propranolol) a été mesurée alors qu'un comportement conservatif a été observé pour la carbamazépine. Les expériences de dégradation complémentaires conduites dans cette étude ont montré que la photolyse était d'importance mineure dans l'atténuation observée, sauf dans le cas du diclofénac, mais que la biotransformation dans le sédiment était responsable de l'élimination de métoprolol et bézafibrate, en particulier. A l'exception des bézafibrate et diclofénac, l'absence d'atténuation observée dans la Jalle de Blanquefort pour ces molécules diffère des résultats de cette étude, mais les temps de séjour dans la Jalle sont vraisemblablement plus courts (points distants de 30 m en décembre et 1 km en juillet).

Dans une autre étude par Writer *et al.* (2013), l'atténuation de 14 médicaments psycholeptiques a été évaluée sur une portion de rivière de 5,4 km soumise à un rejet de STEP. Il a été montré une atténuation rapide de la fluoxétine avec un temps de demi-vie de 3,6 h, une atténuation lente de la carbamazépine ($t_{1/2} = 21$ h) et pas d'atténuation pour le citalopram, la venlafaxine et l'un de ses métabolites. A nouveau, les observations en Jalle de Blanquefort diffèrent puisque les deux médicaments communs à ces études, carbamazépine et fluoxétine, n'y ont pas montré d'atténuation.

Les phénomènes d'atténuation *in-situ*, qu'ils soient basés sur des dégradations biotique, abiotique ou sur l'adsorption, sont donc variables d'un système à l'autre et dépendent vraisemblablement des propriétés de l'hydrosystème. La composition des matières en suspension, la diversité des communautés bactériennes et l'importance de l'irradiation solaire sont autant de paramètres pouvant influencer ces phénomènes.

2.5 Conclusions

Au total, 45 médicaments ont été détectés dans la phase dissoute de la Jalle contre 22 en phase particulaire. La contamination à l'amont de la STEP est non nulle mais de 5 à 10 fois inférieure à la contamination en aval, faisant de **la STEP la source majoritaire de la contamination de la rivière en médicaments**. L'examen des profils longitudinaux a révélé plusieurs apports d'origine inconnue, rendant difficile une étude fine de l'atténuation des concentrations après rejet.

Par ailleurs, **la dégradation rapide de certaines molécules après rejet a été mise en évidence** ; en effet, la comparaison entre analytes permet d'évaluer la persistance ou la dégradabilité relative de chacun.

Les médicaments s'adsorbent aux particules et aux sédiments mais en des proportions limitées. Seuls 5 analytes (ritonavir, imipramine, amitriptyline, fluoxétine et sildénafil) sont portés à plus de 5 % par la phase particulaire. Cependant, les teneurs en MES de la Jalle de Blanquefort sont relativement faibles ($\approx 20 \text{ mg.L}^{-1}$). Dans un site comme l'estuaire de la Gironde, où les MES peuvent dépasser 10 g.L^{-1} dans le bouchon vaseux, la proportion de médicament portée par les particules pourrait être sensiblement supérieure, pouvant nécessiter la considération de ce compartiment dans l'étude du devenir des analytes après rejet. En outre, cette étude documente pour la première fois l'hydrophobie marquée du ritonavir.

Concernant le sédiment, les niveaux de concentration dépendent de sa composition en éléments fins : en normalisant par le pourcentage de vase du sédiment, la contamination est décroissante à mesure que l'on s'éloigne du rejet. Le partage vers les particules ou le sédiment est un phénomène complexe, qui n'est pas corrélé au coefficient de partage octanol-eau ajusté à pH 7, ni strictement à la présence de fonctions acides ou basiques dans les molécules.

Chapitre 4.3 : Caractérisation et étude des variabilités en Gironde

3.1	Suivi continu de l'estuaire par prélèvement ponctuel	309
3.1.1	Occurrence et gammes de concentration	309
3.1.2	Etude des variabilités par point de prélèvement	313
3.2	Suivi continu de l'estuaire par échantillonnage passif	318
3.2.1	Occurrence et gammes de concentration	318
3.2.2	Comparaison échantillonnage passif-prélèvement ponctuel	321
3.2.3	Etude des variabilités par point de prélèvement	323
3.3	Cas des apports amont	324
3.3.1	Contributions des affluents	324
3.3.2	Etude de la contribution de la Garonne	326
3.4	Etudes complémentaires	331
3.4.1	Cas des filtres UV dans la Gironde	331
3.4.2	Variations inter-journalières à Cadaujac	335
3.4.3	Etude spécifique à proximité du rejet	336
3.5	Etude de la partition dissous-particulaire	340
3.5.1	Concentrations en MES	340
3.5.2	Occurrence et variabilités par point de prélèvement	340
3.5.3	Partition entre phases dissoute et particulaire	342
3.6	Devenir des molécules dans l'estuaire	344
3.6.1	Approche par les rapports de concentration	344
3.6.2	Approche complémentaire par modélisation hydrodynamique	347
3.7	Conclusions	350

3 Etude de la contamination de la Gironde

Dans cette partie, les niveaux de concentrations en médicaments de l'hydrosystème de la Gironde ont été étudiés. Le suivi mensuel réalisé par échantillonnages ponctuel et passif sur 18 mois a renseigné les variabilités propres à chaque point de prélèvement et à chaque molécule. L'impact des rejets urbains sur ce système a été évalué par comparaison des apports relatifs amont et locaux pour chaque médicament. Les deux dernières sections s'intéressent au devenir (adsorption, dégradation) des analytes au sein de la Gironde, par analyse de la fraction portée par la phase particulaire et par comparaison des évolutions saisonnières des concentrations à celle d'un traceur « pseudo-conservatif », la carbamazépine.

3.1 Suivi continu de l'estuaire par prélèvement ponctuel

3.1.1 Occurrence et gammes de concentration

Les taux de détection par molécule sont donnés pour les 91 échantillons du suivi estuaire (Tableau 77). Seules 5 molécules (oxazépam, acébutolol, carbamazépine, cétirizine, disopyramide) sont détectées systématiquement dans tous les échantillons, 17 ne l'étant jamais. Les taux de détection par site sont détaillés Figure 152.

Tableau 77. Taux de détection des molécules relevés sur les 91 échantillons d'eau de la Gironde. Le taux exprime le pourcentage du nombre d'échantillons dans lesquels la molécule est détectée.

Analyte	Taux de détection %	Analyte	Taux de détection %
abacavir	80	pravastatine	9
indinavir	0	atorvastatine	0
lamivudine	12	atérolol	75
nelfinavir	0	bisoprolol	71
névirapine	7	métoprolol	50
ritonavir	16	propranolol	79
saquinavir	0	sotalol	98
zidovudine	0	timolol	3
bromazépam	0	acébutolol	100
nordiazépam	61	imipramine	0
alprazolam	0	doxépine	0
diazépam	0	amitriptyline	2
oxazépam	100	fluoxétine	0
lorazépam	16	primidone	42
clonazépam	0	carbamazépine	100
méprobamate	85	cétirizine	100
kétoprofène	61	ranitidine	13
naproxène	76	clenbuterol	0
diclofénac	91	caféine	90
ibuprofène	47	théophylline	97
hydroxy-ibuprofène	51	sildénafil	5
paracétamol	55	losartan	90

gemfibrozil	69	salbutamol	0
bézafrate	79	clopidogrel	82
ac. 4-chlorobenzoïque	0	terbutaline	0
acide fénofibrique	74	disopyramide	100
acide clofibrique	0		

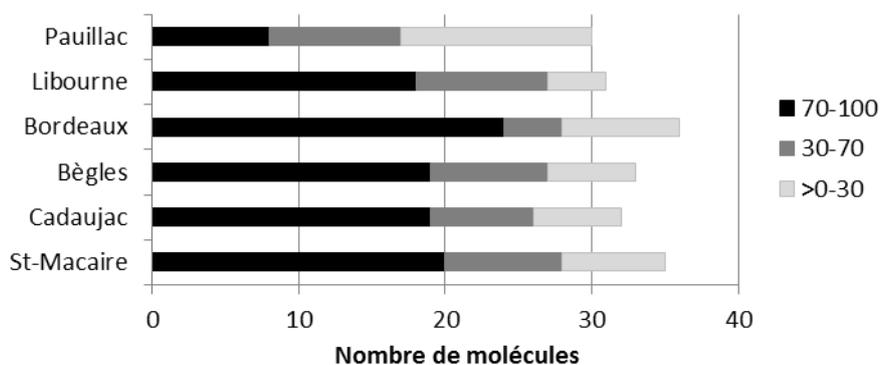


Figure 152. Nombre de molécules détectées par gamme de taux de détection (%) par point de prélèvement (sur les 53 analytes du protocole). Les molécules jamais détectées ont été exclues de la gamme 0-30.

Les taux de détection les plus élevés sont rencontrés à Bordeaux avec 24 molécules détectées dans plus de 70 % des échantillons tandis que Pauillac est le site aux plus faibles taux de détection avec 8 molécules entrant dans cette catégorie.

L'étendue des concentrations médianes va de la LD à près de 100 ng.L⁻¹ (Figure 153). Le classement des molécules par gammes de concentration médiane est le suivant (concentrations décroissantes par classe) :

- > 10 ng.L⁻¹ (8) : caféine, théophylline, paracétamol, kétoprofène, oxazépam, hydroxy-ibuprofène, sotalol, carbamazépine,
- 1 à 10 ng.L⁻¹ (17) : diclofénac, ibuprofène, pravastatine, primidone, cétirizine, acébutolol, naproxène, acide fénofibrique, aténolol, méprobamate, lamivudine, lorazépam, bézafrate, losartan, propranolol, disopyramide, ranitidine
- < 1 ng.L⁻¹ (11) : bisoprolol, métoprolol, gemfibrozil, abacavir, nordiazépam, clopidogrel, ritonavir, névirapine, amitriptyline, sildénafil, timolol,
- Non détectées (17) : indinavir, nelfinavir, saquinavir, zidovudine, bromazépam, alprazolam, diazépam, clonazépam, acide 4-chlorobenzoïque, acide clofibrique, atorvastatine, imipramine, doxépine, fluoxétine, clenbuterol, salbutamol, terbutaline.

Par comparaison aux traceurs oxazépam et carbamazépine, les niveaux de concentration relevés sur l'ensemble des points de l'estuaire indiquent une contamination de 5 à 10 fois inférieure à celle du site de la Jalle de Blanquefort. La source principale des médicaments dans les eaux de surface étant les rejets de STEP (Ashton *et al.*, 2004 ; González Alonso *et al.*, 2010), l'importance des STEP déversant dans un hydrosystème et les débits le caractérisant vont influencer sa contamination. Dans

le cas de la Jalle de Blanquefort, deux STEP de 14 000 et 85 000 EH déversent leurs effluents traités pour un débit annuel moyen dans la Jalle de $3 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Dans le cas de la Garonne, les effluents traités associés à un bassin versant d'approximativement 4 millions d'habitants (Agence de l'Eau Adour-Garonne, communication personnelle) sont déversés dans un hydrosystème au débit annuel moyen de $540 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (cf. chapitre 1, section 7.3). Le rapport du débit fluvial au nombre d'équivalents-habitants associé (assimilé au nombre d'habitants pour la Garonne), pouvant être vu comme la part de débit fluvial disponible par habitant pour assurer la dilution de sa contribution aux effluents urbains, indique que la pression urbaine est approximativement 4 fois supérieure dans la Jalle de Blanquefort ($0,030 \text{ L} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{hab}^{-1}$) que dans la Garonne ($0,14 \text{ L} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{hab}^{-1}$), ce qui pourrait expliquer ces différences de niveaux de concentration. La dilution due à l'intrusion haline et celle due à la contribution de la Dordogne près de la confluence avec la Garonne ne sont pas prises en compte dans ce calcul, ce qui peut expliquer que les concentrations en oxazépam et carbamazépine sont 5 à 10 fois inférieures à celles de la Jalle de Blanquefort pour une pression urbaine calculée 4 fois inférieure.

La concentration médiane en carbamazépine relevée dans le Rhin ($2170 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, 58 millions d'habitants) entre 2002 et 2008 par ter Laak *et al.* (2010) est également supérieure à celle relevée dans la Garonne et voisine de celle mesurée dans la Jalle de Blanquefort ($\approx 100 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$). Le rapport du débit fluvial à la population de son bassin versant est cohérent avec cette observation (indice de $0,037 \text{ L} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{hab}^{-1}$). Dans le cas de la Seine, une concentration moyenne de $57 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ en carbamazépine a été relevée en amont de la marée dynamique (barrage de Poses) dans le cadre du programme Medseine (Budzinski *et al.*, 2012). Le rapport du débit fluvial (moyenne 2003-2012 à Poses de $415 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, données Seine-Aval) à la population estimée en amont de Poses (16 millions d'habitants données Seine-Aval) suggère une pression des effluents urbains similaire à celle observée dans la Jalle (indice de $0,026 \text{ L} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{hab}^{-1}$), malgré des concentrations mesurées en carbamazépine approximativement 2 fois plus faibles. Il en vient que le niveau de contamination d'un hydrosystème est contrôlé par l'importance des effluents urbains déversés et par le débit fluvial les diluant.

Cette approche globale ne prend pas en compte l'influence des performances de traitement en STEP puisqu'un habitant relié à une STEP équipée de traitement tertiaire ne contribue pas autant qu'un habitant relié à une STEP à simple traitement primaire physico-chimique. Elle permet néanmoins une évaluation qualitative approximative de la pression urbaine exercée sur un cours d'eau.

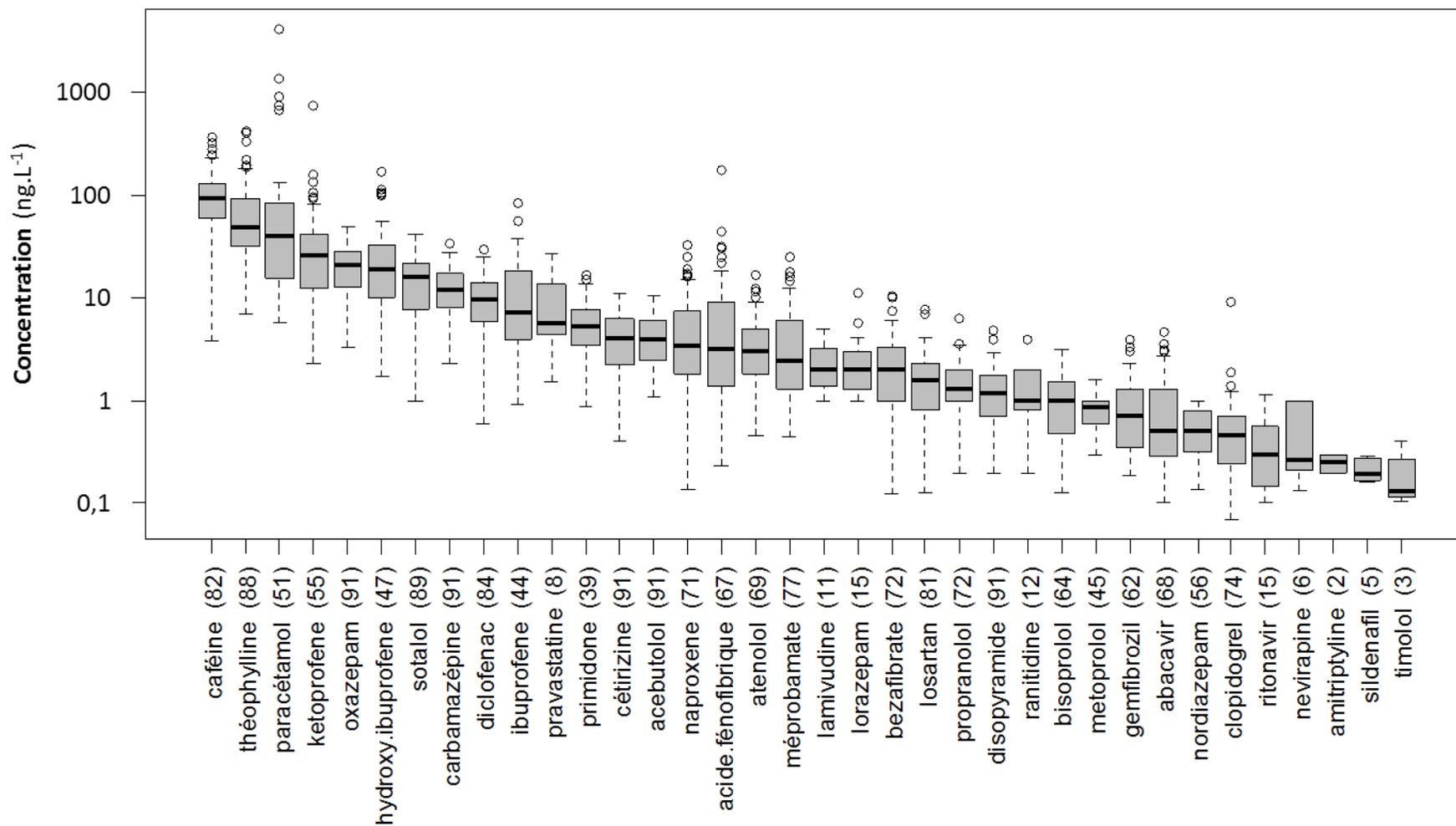


Figure 153. Concentrations mesurées sur l'ensemble des échantillons de la Gironde. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses. Les valeurs inférieures à la LQ ont été exclues.

3.1.2 Etude des variabilités par point de prélèvement

L'examen de la variabilité a été ciblé sur six molécules choisies pour leur fort taux de détection (plus de 70 % des échantillons), et, en outre, parce que certaines sont stables (oxazépam, carbamazépine) et d'autres dégradables (acide fénofibrique, abacavir), cf. chapitre 4.2 section 2.4. Les résultats sont présentés Figure 154. Les concentrations sont minimales à Pauillac et maximales à Bordeaux, les points de prélèvement Bordeaux, Bègles, Cadaujac et Saint-Macaire, tous situés sur la Garonne, ont des concentrations en oxazépam, carbamazépine, sotalol et bézafibrate relativement homogènes. En revanche, les concentrations en acide fénofibrique et abacavir sont 4 à 5 fois supérieures à Bordeaux par rapport à Bègles, Bègles étant légèrement plus contaminé que les points situés à l'amont. Cette contamination supérieure observée à proximité des points de l'agglomération bordelaise ne se répercute pas pour autant sur l'aval puisque les concentrations au point Pauillac ne sont relativement pas supérieures à celles observées pour les analytes considérés comme conservatifs.

La matrice des corrélations suivant le test de Pearson pour les 6 molécules précédemment sélectionnées est présentée dans le Tableau 78. A l'exception de Pauillac, les points sont corrélés entre eux suivant les variables oxazépam, carbamazépine, bézafibrate et, dans une moindre mesure, sotalol. En revanche, pour les variables acide fénofibrique et abacavir, considérées comme dégradables d'après les résultats présentés au chapitre 4.2, section 2.4, les coefficients sont plus faibles et une bonne corrélation n'est observée qu'entre Bordeaux, Bègles et Cadaujac, points géographiquement proches. Les propriétés de dégradabilité des analytes ont donc une influence sur la répartition de ceux-ci dans l'estuaire.

L'examen des concentrations relevées sur l'intégralité du suivi (Figure 155) confirme la corrélation entre les points de prélèvement pour l'oxazépam et la carbamazépine. Les profils sont similaires, à la fois entre les points et entre les deux molécules. La comparaison aux débits de la Garonne indique un profil de dilution, avec les concentrations maximales atteintes en période d'étiage et des concentrations minimales en période de crue. Pour les 4 molécules sotalol, bézafibrate, acide fénofibrique et abacavir, classées par dégradabilité croissante, une prépondérance progressive de Bordeaux est observée, en plus de ce profil de dilution. Pour ce point et ces molécules, un pic de concentration est également mesuré le 16/12/11, attribué aux déversements d'effluents non traités en Garonne suite à une forte pluviométrie (les réseaux de collecte des STEP Clos de Hilde et Louis Fargue cumulés ont « bypassé » plus de 650 000 m³ ce jour-là, la pluviométrie enregistrée à Bordeaux étant de 32 mm). Le paracétamol, traceur de rejet d'eaux non traitées d'après les résultats du chapitre 4.1, section 1.3.2, y a été mesuré à plus de 1300 ng.L⁻¹, quand sa concentration hors événement pluviométrique est inférieure aux LQ (16,2 ng.L⁻¹).

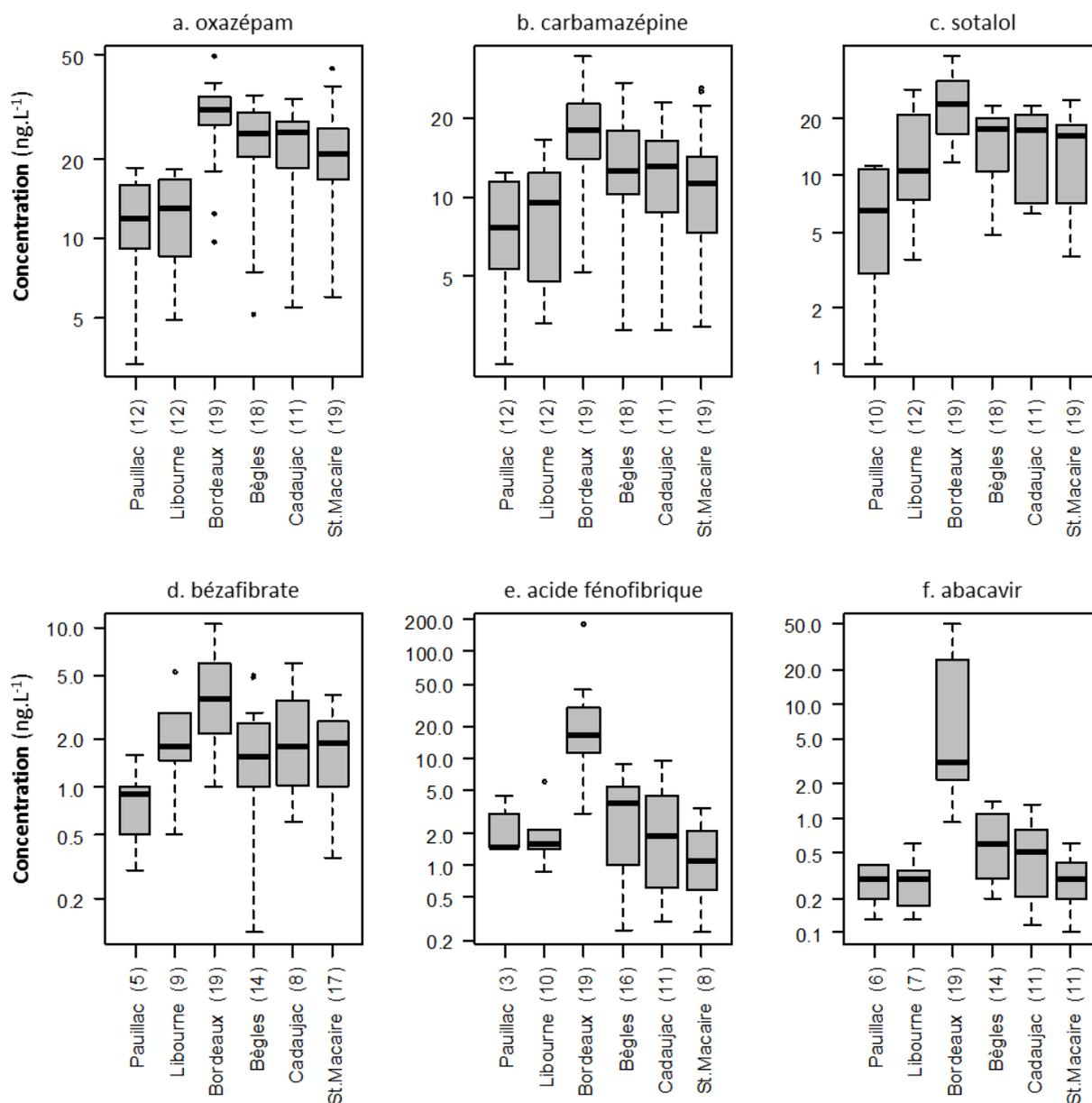


Figure 154. Concentrations mesurées par point échantillonné de l'estuaire. Les molécules sont classées selon l'ordre de dégradabilité établi précédemment. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses. Les valeurs inférieures à la LQ ont été exclues.

Tableau 78. Matrice des corrélations (coefficient de Pearson) entre les sites de l'estuaire. Les 12 observations communes aux 6 sites sont les individus, les concentrations d'une molécule aux sites étant les variables. Les corrélations fortes (supérieures à 0,75) sont identifiées par une case grisée.

oxazépam	Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	Cadaujac	St-Macaire
Pauillac	1,0	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7
Libourne	0,5	1,0	0,8	0,8	0,8	0,8
Bordeaux	0,5	0,8	1,0	1,0	0,9	0,8
Bègles	0,6	0,8	1,0	1,0	1,0	0,9
Cadaujac	0,7	0,8	0,9	1,0	1,0	0,9
St-Macaire	0,7	0,8	0,8	0,9	0,9	1,0

sotalol	Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	Cadaujac	St-Macaire
Pauillac	1,0	0,2	0,6	0,5	0,6	0,5
Libourne	0,2	1,0	0,7	0,7	0,8	0,7
Bordeaux	0,6	0,7	1,0	0,9	0,9	0,7
Bègles	0,5	0,7	0,9	1,0	0,9	0,8
Cadaujac	0,6	0,8	0,9	0,9	1,0	0,9
St-Macaire	0,5	0,7	0,7	0,8	0,9	1,0

carbamazépine	Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	Cadaujac	St-Macaire
Pauillac	1,0	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8
Libourne	0,7	1,0	0,8	0,8	0,8	0,8
Bordeaux	0,7	0,8	1,0	0,9	0,9	0,9
Bègles	0,7	0,8	0,9	1,0	1,0	0,9
Cadaujac	0,7	0,8	0,9	1,0	1,0	0,9
St-Macaire	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9	1,0

acide fénofibrique	Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	Cadaujac	St-Macaire
Pauillac	1,0	-0,5	0,5	0,8	0,7	-0,6
Libourne	-0,5	1,0	0,5	0,1	0,2	1,0
Bordeaux	0,5	0,5	1,0	0,9	1,0	0,5
Bègles	0,8	0,1	0,9	1,0	1,0	0,1
Cadaujac	0,7	0,2	1,0	1,0	1,0	0,2
St-Macaire	-0,6	1,0	0,5	0,1	0,2	1,0

bézafibrate	Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	Cadaujac	St-Macaire
Pauillac	1,0	-0,2	-0,1	0,3	0,0	-0,1
Libourne	-0,2	1,0	0,9	0,7	0,9	0,9
Bordeaux	-0,1	0,9	1,0	0,9	1,0	1,0
Bègles	0,3	0,7	0,9	1,0	0,9	0,9
Cadaujac	0,0	0,9	1,0	0,9	1,0	1,0
St-Macaire	-0,1	0,9	1,0	0,9	1,0	1,0

abacavir	Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	Cadaujac	St-Macaire
Pauillac	1,0	0,7	-0,7	-0,5	0,1	0,7
Libourne	0,7	1,0	0,0	0,3	0,8	0,8
Bordeaux	-0,7	0,0	1,0	0,9	0,5	-0,4
Bègles	-0,5	0,3	0,9	1,0	0,8	0,0
Cadaujac	0,1	0,8	0,5	0,8	1,0	0,6
St-Macaire	0,7	0,8	-0,4	0,0	0,6	1,0

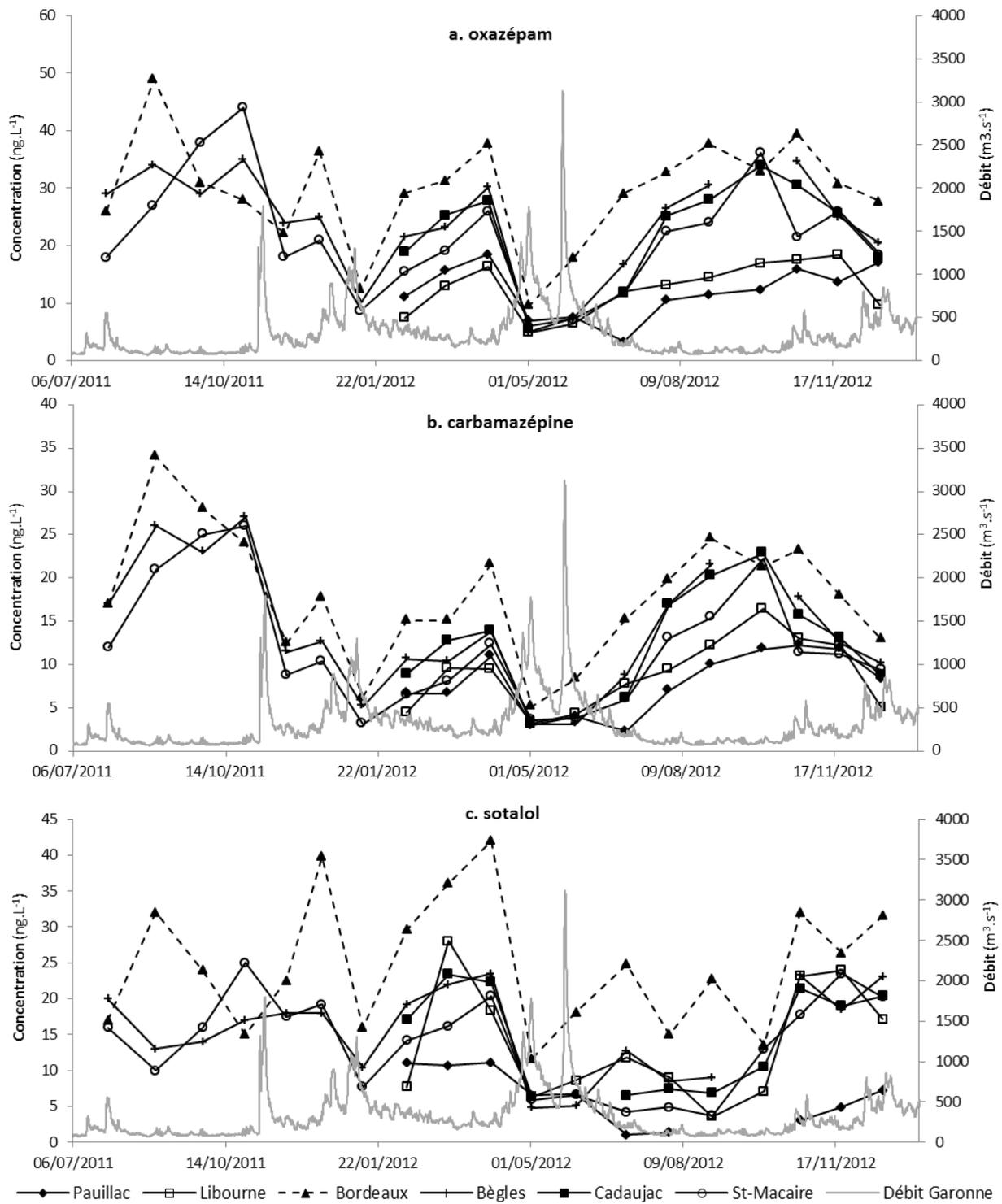


Figure 155. Concentrations mesurées aux points échantillonnés de l'estuaire de juillet 2011 à décembre 2012. En cas de non détection, le point a été exclu.

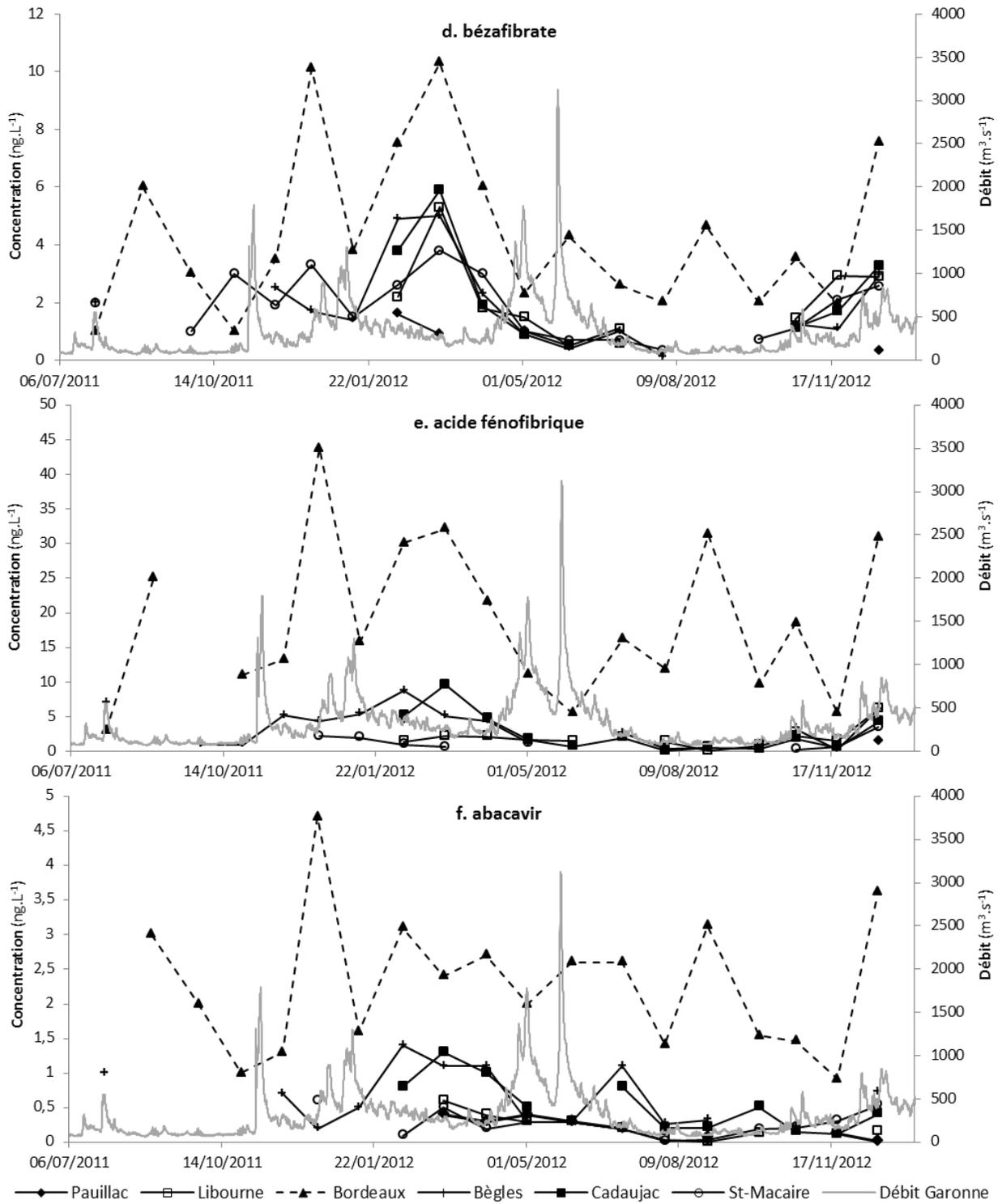


Figure 155 (suite). Une valeur extrême en acide fénofibrique de 176 ng.L⁻¹ le 29/09/11 a été exclue.

3.2 Suivi continu de l'estuaire par échantillonnage passif

3.2.1 Occurrence et gammes de concentration

Les taux de détection des analytes dans les POCIS sont donnés dans le Tableau 79. Sur les 44 molécules calibrées, 37 molécules sont détectées avec un taux de détection allant de 7 à 100 % alors que par prélèvement ponctuel 36 molécules étaient détectées sur les 53 du protocole avec un taux variant de 2 à 100 %. Le détail des taux de détection par point de prélèvement est donné Figure 156.

Tableau 79. Taux de détection des molécules relevés sur les 117 POCIS exposés en Gironde. NC : molécule non calibrée.

Analyte	taux de détection %	Analyte	taux de détection %
abacavir	96	pravastatine	28
indinavir	NC	atorvastatine	7
lamivudine	NC	aténolol	88
nelfinavir	0	bisoprolol	95
névirapine	99	métoprolol	92
ritonavir	60	propranolol	100
saquinavir	0	sotalol	100
zidovudine	58	timolol	83
bromazépam	62	acébutolol	100
nordiazépam	100	imipramine	0
alprazolam	79	doxépine	0
diazépam	94	amitriptyline	78
oxazépam	100	fluoxétine	15
lorazépam	94	primidone	95
clonazépam	0	carbamazépine	100
méprobamate	98	cétirizine	95
kétoprofène	52	ranitidine	20
naproxène	92	clenbuterol	0
diclofénac	94	caféine	NC
ibuprofène	79	théophylline	NC
hydroxy-ibuprofène	NC	sildénafil	46
paracétamol	NC	losartan	93
gemfibrozil	96	salbutamol	0
bézafibrate	75	clopidogrel	97
ac. 4-chlorobenzoïque	NC	terbutaline	NC
acide fénofibrique	89	disopyramide	100
acide clofibrique	NC		

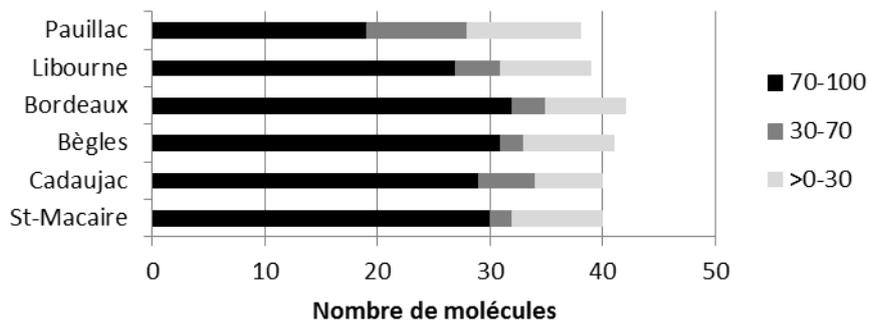


Figure 156. Nombre de molécules détectées par gamme de taux de détection (%) par point de prélèvement (sur les 44 analytes calibrés). Les molécules jamais détectées ont été exclues de la gamme 0-30.

Les taux de détection les plus élevés sont rencontrés à Bordeaux et les plus faibles à Pauillac, comme dans le cas des prélèvements ponctuels. Près de 30 molécules (/44) présentent des taux de détection compris entre 70 et 100 % à chaque point contre moins de 20 (/53) par prélèvement ponctuel, attestant de l'amélioration des limites de détection par échantillonnage passif. Les différences entre les points de prélèvement sont également moins marquées que par prélèvement ponctuel (Figure 152).

Le classement des analytes par gamme de concentration équivalente est globalement peu différent de celui établi en section 3.1.1 de ce chapitre par prélèvement ponctuel mais permet de renseigner 6 molécules non détectées par ce dernier : la zidovudine et l'atorvastatine dans la gamme 1-10 ng.L⁻¹, le bromazépam, l'alprazolam, le diazépam et la fluoxétine à moins de 1 ng.L⁻¹. La diminution des limites de détection par échantillonnage passif permet d'étudier le comportement de molécules qui auraient été en limite de quantification dans les échantillons ponctuels.

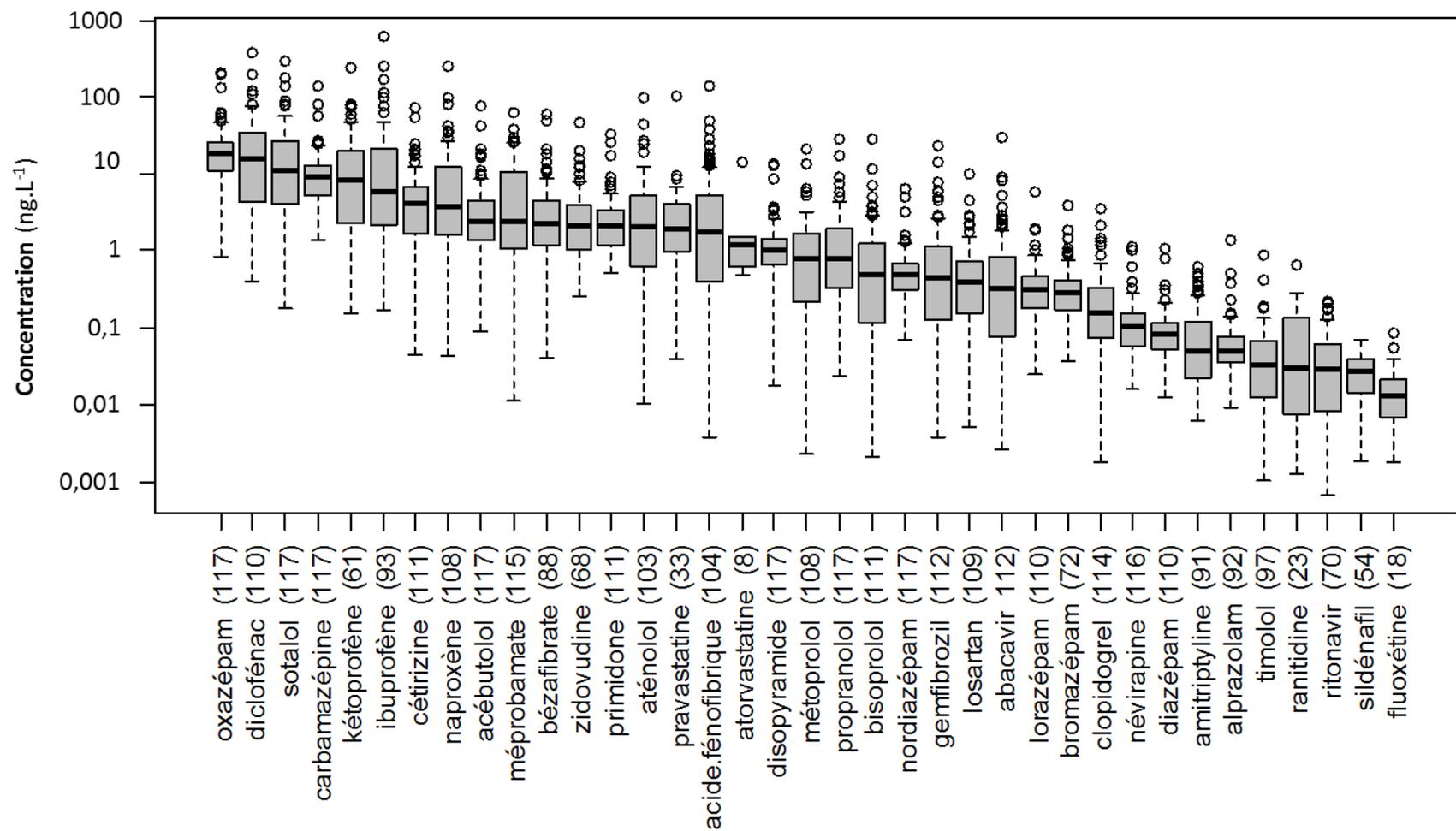


Figure 157. Concentrations équivalentes mesurées par POCIS sur l'ensemble des échantillons de la Gironde. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses. Les valeurs inférieures à la LQ ont été exclues.

3.2.2 Comparaison échantillonnage passif-prélèvement ponctuel

Le rapport d'adéquation entre la concentration équivalente donnée par POCIS et la concentration mesurée par prélèvement ponctuel est donné Figure 158 pour l'ensemble du suivi (6 points de prélèvement, 18 dates communes). Tous les analytes excepté les lorazépam, losartan et diclofénac présentent des concentrations ne différant pas de plus d'un facteur 2 entre les deux méthodes d'échantillonnage (rapport médian compris entre 0,5 et 2). La performance des POCIS à échantillonner lorazépam, losartan et diclofénac a été discutée dans le chapitre 3.2, section 2.2.

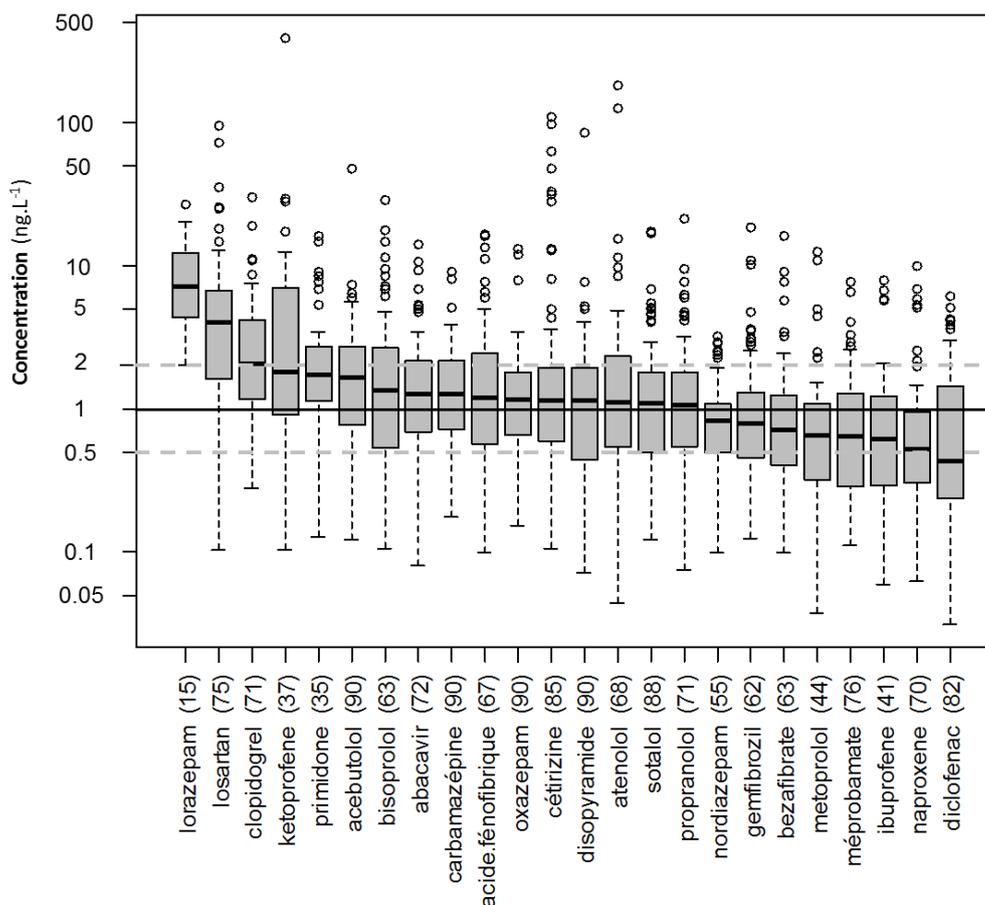


Figure 158. Rapport des concentrations mesurées par POCIS aux concentrations mesurées par prélèvement ponctuel pour les molécules détectées par prélèvement ponctuel dans un minimum de 15 échantillons. Le nombre de mesures est donné entre parenthèses.

A titre d'exemple, l'évolution des concentrations en carbamazépine à Bègles et acide fénofibrique à Bordeaux mesurées par prélèvement ponctuel et échantillonnage passif est donnée Figure 159.

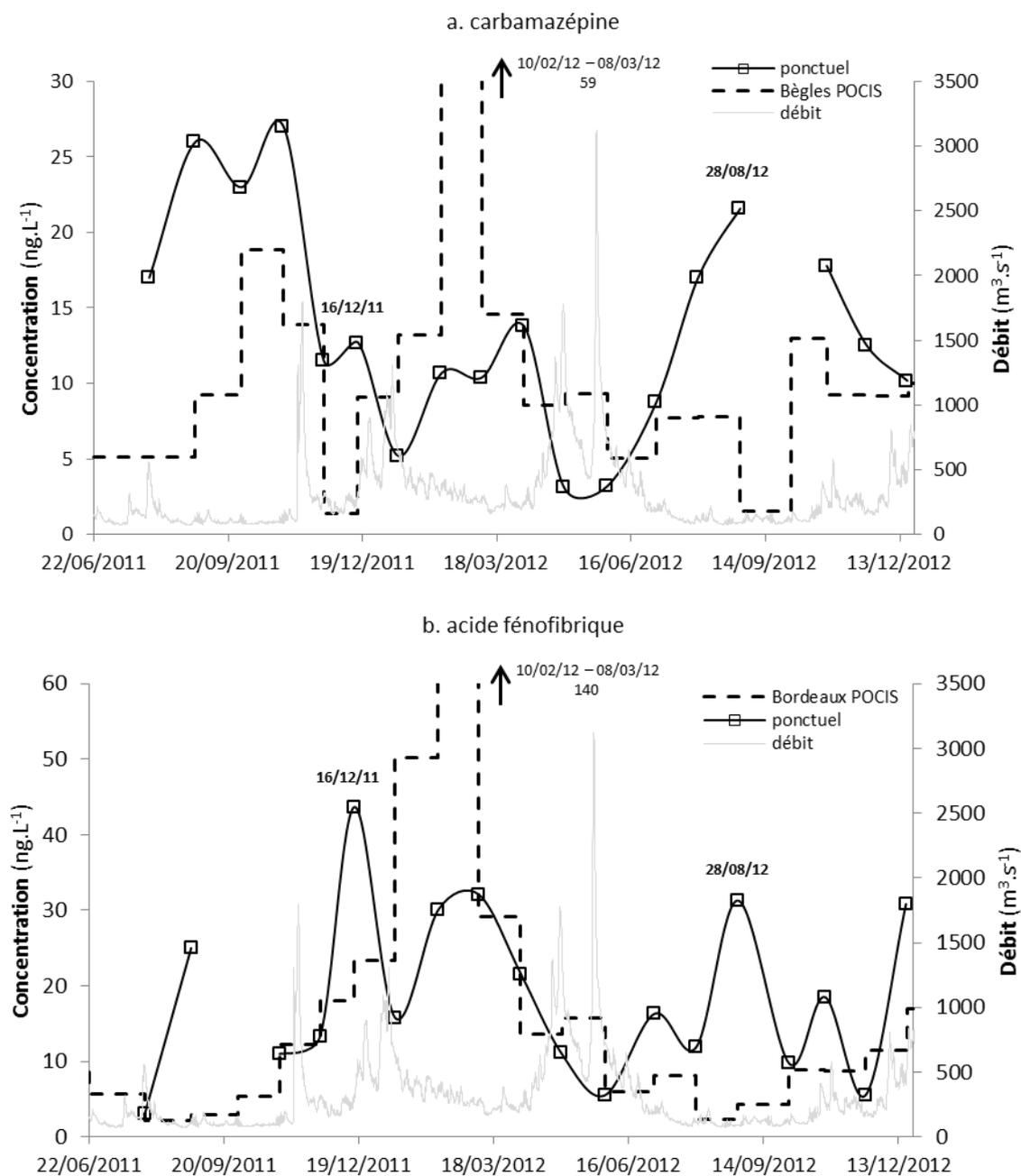


Figure 159. Evolution des concentrations en carbamazépine à Bègles et acide fénofibrique à Bordeaux mesurées par prélèvement ponctuel et échantillonnage passif.

Pour les deux molécules, les niveaux de concentration et les tendances globales présentent un bon accord. L'échantillonnage passif apporte un lissage des pics de concentrations mesurés par prélèvement ponctuel, comme on l'observe le 16/12/11 ou le 28/08/12 pour l'acide fénofibrique. Les POCIS exposés du 10/02/12 au 08/03/12 lors la vague de froid dont il a déjà été fait état (cf. chapitre 3.2, section 2.4.1) donnent des concentrations équivalentes élevées, en désaccord avec les tendances observées et avec le prélèvement ponctuel. Les concentrations équivalentes ont été calculées par le salbutamol d3 et la caféine ¹³C, au pourcentage de désorption inférieur à 80 %. Ce résultat indique que la correction PRC est imparfaite dans ces conditions : les concentrations

équivalentes élevées suggèrent que l'accumulation est moins affectée par la chute des température que l'élimination des PRC, étudiée dans le détail dans le chapitre 3.2, section 2.4.2.

3.2.3 Etude des variabilités par point de prélèvement

Le profil des concentrations équivalentes mesurées par échantillonnage passif est globalement équivalent à celui mesuré par échantillonnage ponctuel (Figure 160). Grâce à de meilleures limites de détection, un plus grand nombre de molécules peut faire l'objet d'études de variabilité entre les points de prélèvement, les points les plus dilués comme Pauillac bénéficiant par ailleurs de plus d'observations. Ainsi, dans le cas de l'acide fénofibrique, 13 mesures (/19) permettent d'évaluer la contamination de ce point contre 3 (/19) pour les mesures par prélèvement ponctuel. Les concentrations équivalentes mesurées, de l'ordre de $0,2 \text{ ng.L}^{-1}$, sont en effet inférieures à la LQ de $0,5 \text{ ng.L}^{-1}$ dans l'eau (cf. chapitre 3.1, section 1.2.2).

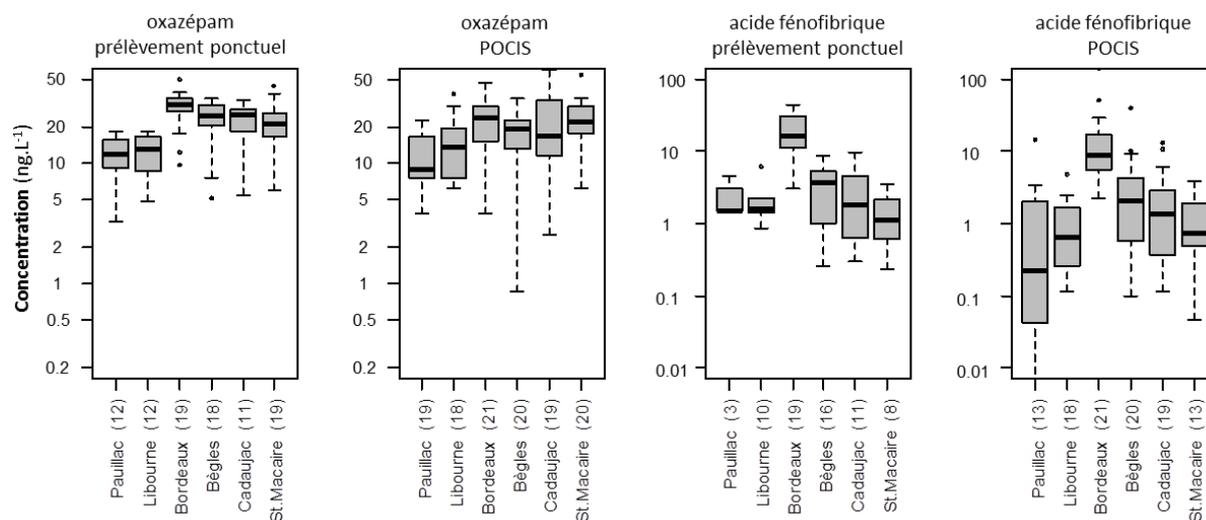


Figure 160. Comparaison des concentrations mesurées par point échantillonné par prélèvement ponctuel et échantillonnage passif pour oxazépam et acide fénofibrique. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses.

La Figure 161 donne l'exemple de 3 molécules pour lesquelles l'étude par prélèvement ponctuel n'est pas possible en raison des faibles concentrations du milieu : le bromazépam, à des concentrations relativement homogènes le long de la Gironde, le naproxène, présentant la même singularité au niveau de Bordeaux que les molécules dégradables données au point 3.1.2 et le propranolol, au comportement intermédiaire. Les concentrations mesurées par échantillonnage passif pour l'intégralité des molécules détectées sont données en Annexe 17.

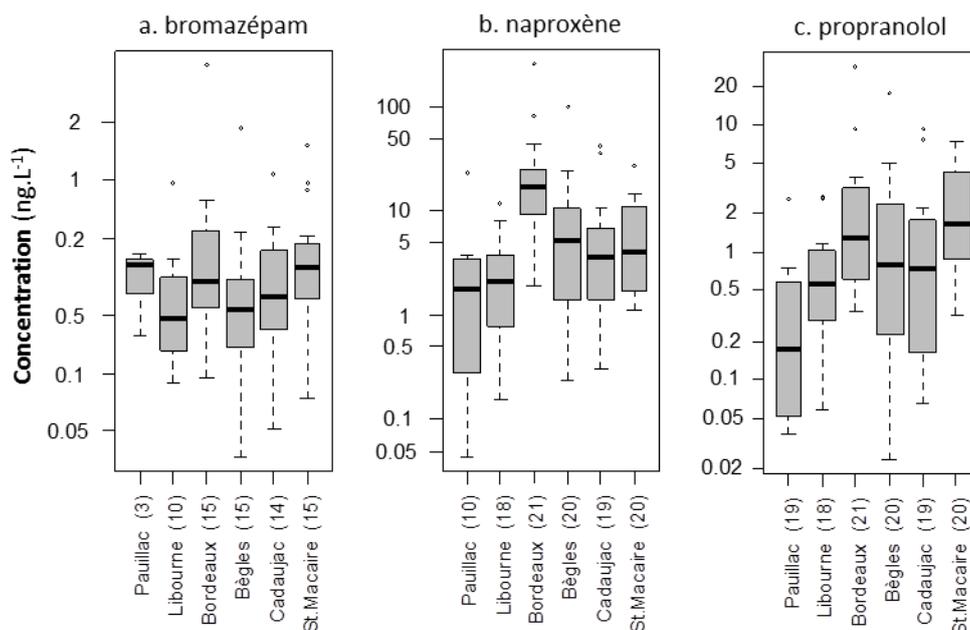


Figure 161. Concentrations mesurées par point échantillonné par échantillonnage passif pour propranolol, naproxène et bromazéпам. Le nombre de mesures est indiqué pour chaque molécule entre parenthèses.

3.3 Cas des apports amont

3.3.1 Contributions des affluents

Trois échantillonnages effectués en mars-avril 2012 aux trois sites amont de l'estuaire (La Réole sur la Garonne, Pessac-sur-Dordogne et Guîtres sur l'Isle) permettent d'y déterminer les flux entrant par produit des concentrations mesurées et des débits enregistrés. Les débits sont pris à Tonneins pour la Garonne (50 km en amont de La Réole), Lamonzie-Saint-Martin pour la Dordogne (30 km en amont de Pessac-Sur-Dordogne), Abzac pour l'Isle (7 km en amont de Guîtres) auquel est ajouté le débit de la Dronne mesuré à Coutras (5 km en amont de Guîtres).

Les flux en médicaments apportés par ces 3 affluents de la Gironde et donnés dans le Tableau 80 ont été calculés comme la moyenne des flux du 14/03/12, 23/03/12 et 02/04/12.

Tableau 80. Flux en médicaments provenant de la Garonne, de la Dordogne, de l'Isle et de la Jalle de Blanquefort. La concentration des composés non détectés a été remplacée par leur LD/2.

Analyte	Flux provenant des affluents (g.j ⁻¹)			
	Garonne	Dordogne	Isle	Jalle
abacavir	2,7 ± 0,8	1,0 ± 0,2	< 0,1	0,1 ± 0,1
indinavir	< 3	< 1	< 0,3	< 0,1
lamivudine	< 8	< 4	< 0,9	0,1 ± 0,1
nelfinavir	< 0,8	< 0,4	< 0,1	< 0,1
névirapine	< 3	< 1	< 0,3	< 0,1
ritonavir	11 ± 4	0,4 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,2 ± 0,1

Analyte	Flux provenant des affluents (g.j ⁻¹)			
	Garonne	Dordogne	Isle	Jalle
saquinavir	< 1	< 0,6	< 0,1	< 0,1
zidovudine	< 37	< 16	< 4	< 0,1
bromazépam	5,5 ± 9,6	< 5,1	0,4 ± 0,7	0,1 ± 0,1
nordiazépam	9,9 ± 1,1	1,8 ± 1,6	1,2 ± 0,4	0,1 ± 0,1
alprazolam	< 2	< 0,9	< 0,2	< 0,1
diazépam	1,8 ± 1,6	< 1,9	< 0,4	< 0,1
oxazépam	543 ± 174	99 ± 29	51 ± 11	4 ± 1
lorazépam	17 ± 19	4,6 ± 8	1,2 ± 1	0,3 ± 0,1
clonazépam	< 5	< 2	< 0,5	< 0,1
méprobamate	55 ± 27	11 ± 1	7 ± 2	1,1 ± 0,2
kétoprofène	< 24	< 10	< 3	0,5 ± 0,8
naproxène	63 ± 30	20 ± 6	7 ± 2	2 ± 1
diclofénac	133 ± 93	45 ± 27	15 ± 4	3 ± 1
ibuprofène	101 ± 88	46 ± 28	7 ± 7	0,6 ± 0,2
hydroxy-ibuprofène	390 ± 143	101 ± 40	43 ± 9	5 ± 2
paracétamol	1135 ± 319	630 ± 341	106 ± 20	3 ± 4
gemfibrozil	28 ± 14	8 ± 1	2 ± 1	0,4 ± 0,1
bézafibrate	73 ± 29	21 ± 9	17 ± 6	2 ± 1
acide 4-chlorobenzoïque	< 34	< 14	< 3	< 0,1
acide fénofibrique	37 ± 9	19 ± 7	2 ± 1	3 ± 5
acide clofibrique	< 2	< 1	< 0,2	0,3 ± 0,1
pravastatine	< 8,4	< 3,6	< 0,9	< 0,1
atorvastatine	< 20	< 9	< 2	< 0,1
aténolol	87 ± 47	16 ± 9	8 ± 1	3 ± 1
bisoprolol	14 ± 6	4 ± 2	2 ± 1	1 ± 1
métoprolol	12 ± 13	3 ± 2	2 ± 1	< 0,1
propranolol	47 ± 34	12 ± 7	4 ± 1	2 ± 1
sotalol	372 ± 178	158 ± 66	72 ± 15	9 ± 2
timolol	< 1	< 0,5	< 0,1	< 0,1
acébutolol	153 ± 71	34 ± 19	11 ± 2	2 ± 1
imipramine	< 1	1,6 ± 1,9	0,2 ± 0,3	0,1 ± 0,1
doxépine	< 5	< 2	< 0,5	< 0,1
amitriptyline	< 2	< 0,7	< 0,2	< 0,1
fluoxétine	< 2	< 0,7	< 0,2	< 0,1
primidone	59 ± 16	3 ± 5	4,7 ± 4,3	0,8 ± 0,5
carbamazépam	275 ± 90	71 ± 15	28 ± 6	3 ± 1
cétirizine	158 ± 52	25 ± 8	15 ± 2	2 ± 1
ranitidine	< 2	< 0,7	< 0,2	< 0,1
clenbuterol	< 3	< 1	< 0,3	< 0,1
caféine	2418 ± 600	718 ± 332	264 ± 143	9 ± 5
théophylline	1675 ± 521	501 ± 114	251 ± 233	10 ± 4
sildénafil	< 3	< 1	< 0,3	< 0,1
losartan	4,6 ± 2,6	1 ± 0,9	2,3 ± 1,7	0,5 ± 0,2
salbutamol	< 2	< 0,9	< 0,2	< 0,1
clopidogrel	9,2 ± 5,5	2,5 ± 1	0,8 ± 0,2	0,1 ± 0,1
terbutaline	< 7	< 3	< 0,7	< 0,1
disopyramide	25 ± 15	11 ± 3	11 ± 1	1 ± 1

La Jalle de Blanquefort apporte en moyenne moins de 2 % du flux arrivant en Gironde. N'étant pas une source majoritaire d'apport à ce système, cette rivière ne sera pas considérée par la suite. La proportion des flux des trois autres affluents est présentée Figure 162.

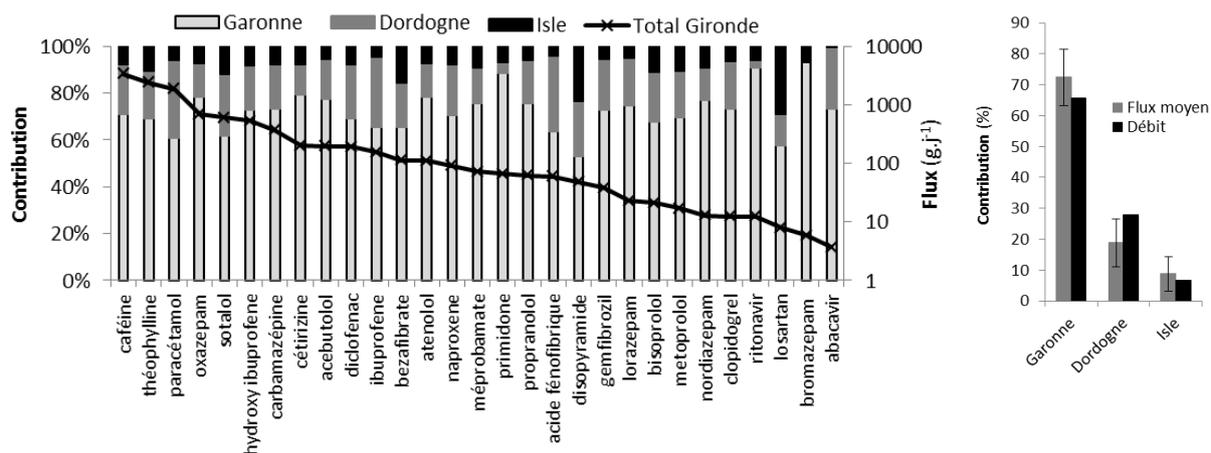


Figure 162 Contribution au flux total entrant en Gironde de l'Isle, de la Dordogne et de la Garonne pour chaque molécule détectée, à gauche, et pour la moyenne des molécules, à droite.

La Garonne contribue en moyenne à plus de 70 % du flux en médicaments entrant dans la Gironde, dans les mêmes proportions que sa contribution au débit. Peu de différences de contribution relative sont observées entre les molécules, il n'est pas possible de choisir une molécule-traceur pour chaque masse d'eau entrant dans le système. La contamination en médicaments est donc ubiquiste et généraliste.

3.3.2 Etude de la contribution de la Garonne

Dans un premier temps, l'importance relative de l'apport des effluents de l'agglomération bordelaise par rapport à ceux de l'amont a été évaluée par le rapport du flux moyen sortant des STEP de l'agglomération sur le flux apporté par la Garonne lors des échantillonnage présentés au point précédent (Figure 163). Les molécules au rapport supérieur à 1 ont pour principale source dans l'estuaire les effluents urbains de la CUB.

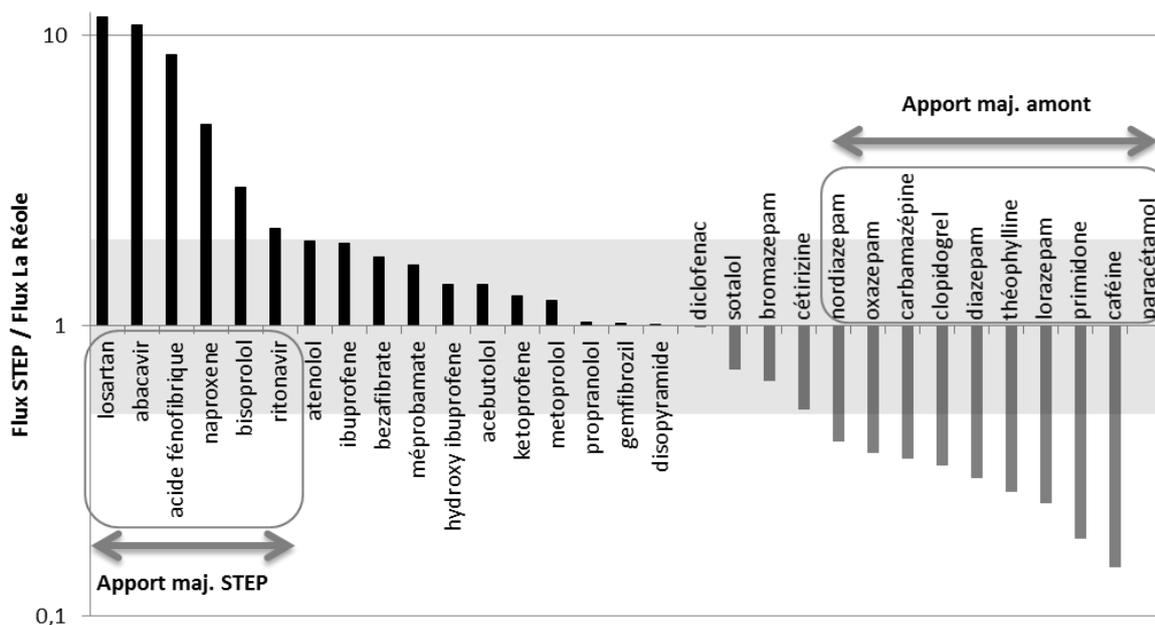


Figure 163. Rapport du flux moyen sortant des STEP de la CUB par temps sec au flux moyen entrant dans l'estuaire à La Réole lors de la campagne de mars-avril 2012. La zone grisée correspond à l'intervalle [0,5 , 2]. Le paracétamol, au rapport très variable, prend la valeur de 0,002 mais dépasse 2 par temps de pluie.

L'apport des STEP est donc majoritaire pour plus de la moitié des analytes, jusqu'à un facteur 10 pour le losartan ou l'abacavir. Ces résultats expliquent les faibles corrélations inter-sites pour les molécules les plus dégradables, identifiées en section 3.1.2 de ce chapitre, et leurs concentrations marquées à Bordeaux : l'abacavir et l'acide fénofibrique y sont plus concentrés car apportés localement en majorité. En revanche, l'oxazepam et la carbamazépine, d'apport majoritairement amont, ne présentent pas ces spécificités.

Ce résultat correspond à la situation observée dans les conditions de la campagne de mars-avril 2012, c'est-à-dire par un débit approximatif de $300 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en Garonne et pour des rejets de temps sec. Afin de le généraliser, les concentrations relevées à La Réole lors de cette campagne sont comparées à celles mesurées à Saint-Macaire de juillet 2011 à décembre 2012. Concernant la carbamazépine (Figure 164), les ordres de grandeur sont respectés. Sur l'ensemble des molécules (Figure 165), les mesures à la Réole et à Saint-Macaire ne diffèrent pas de plus de 25 % en moyenne. Les écarts-types sont relativement élevés en raison de la variabilité annuelle notamment sur les marqueurs de rejets urbains (paracétamol, ibuprofène, hydroxy-ibuprofène), détaillée en sections 3.1.2 et 3.2.3 de ce chapitre. Le cas du méprobamate est abordé ci-après.

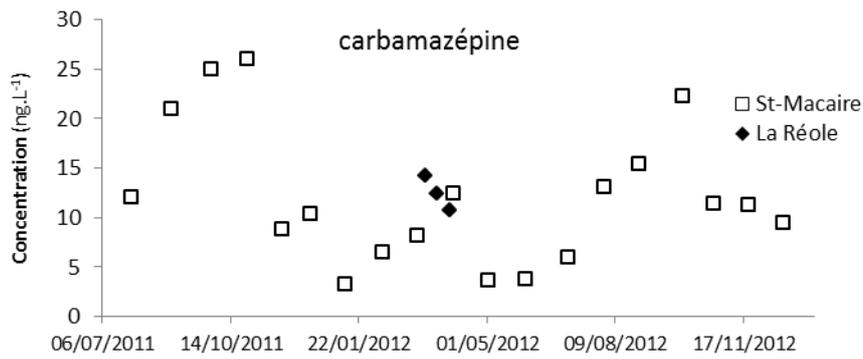


Figure 164. Comparaison des concentrations aux sites Saint-Macaire et La Réole.

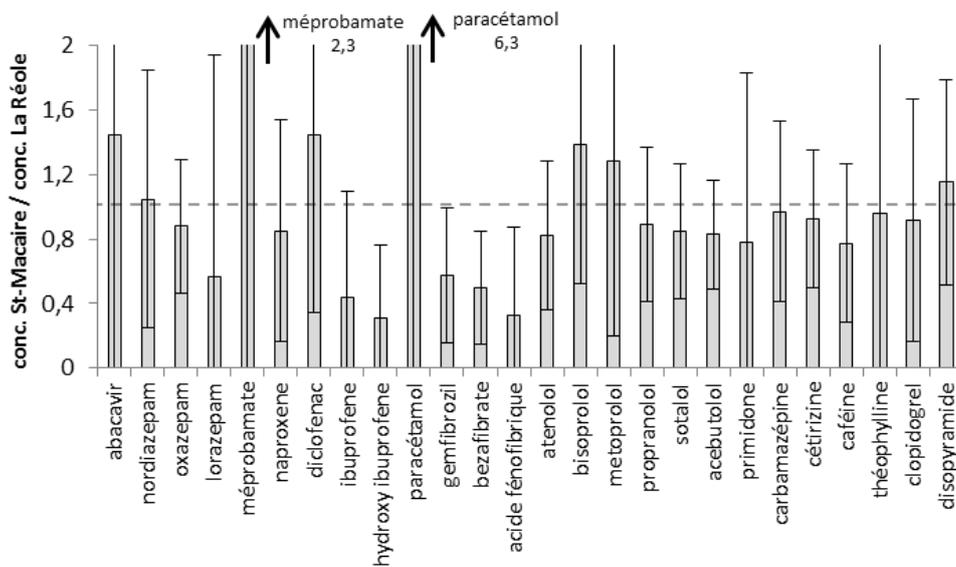


Figure 165. Rapport de la concentration moyenne mesurée à La Réole en mars-avril 2012 à la concentration moyenne mesurée à St-Macaire sur l'ensemble du suivi de juillet 2011 à décembre 2012 pour les molécules quantifiées au-delà des LQ aux 2 points de prélèvement.

Pour la suite, il est fait l'hypothèse que les concentrations mesurées à Saint-Macaire sont similaires à celles de La Réole. Le flux transitant par Saint-Macaire depuis l'amont est calculé sur toutes les campagnes. La Figure 166 montre que le flux en carbamazépine n'est pas constant et varie autour d'une moyenne de 240 g.j^{-1} avec des valeurs extrêmes inférieures à 100 g.j^{-1} et supérieures à 500 g.j^{-1} . Ces mêmes flux calculés à partir des données d'échantillonnage passif (Figure 167) présentent la même variabilité, écartant de ce fait la possibilité d'un biais lié à la représentativité du prélèvement ponctuel. Des valeurs plus fortes sont données par échantillonnage passif, en hiver et au printemps, notamment le 02/05/12 où les débits de crue de la Garonne exacerbent le flux calculé.

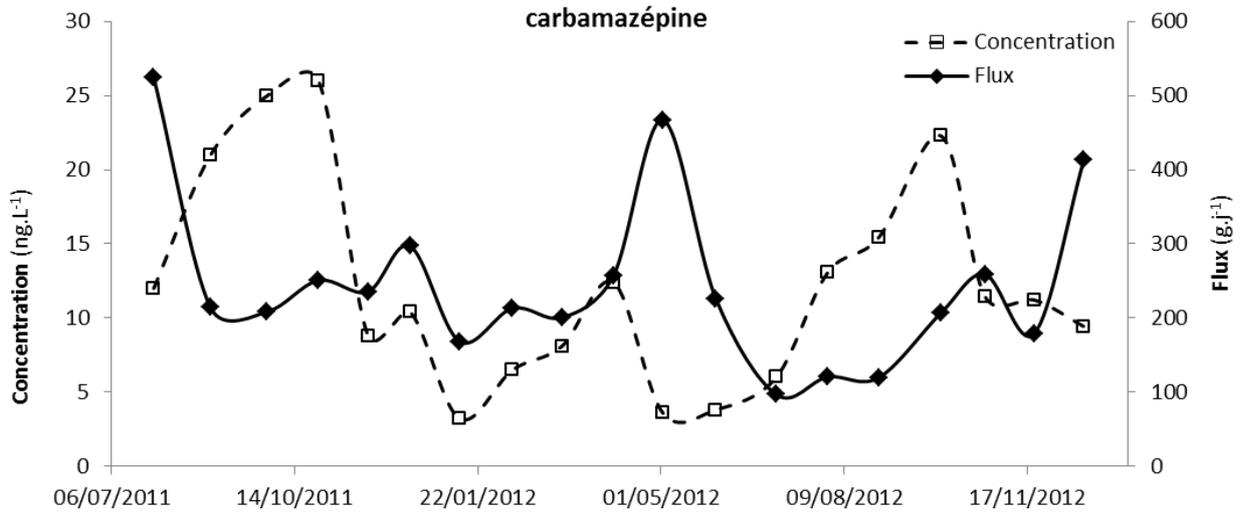


Figure 166. Comparaison du flux et de la concentration mesurés à Saint-Macaire.

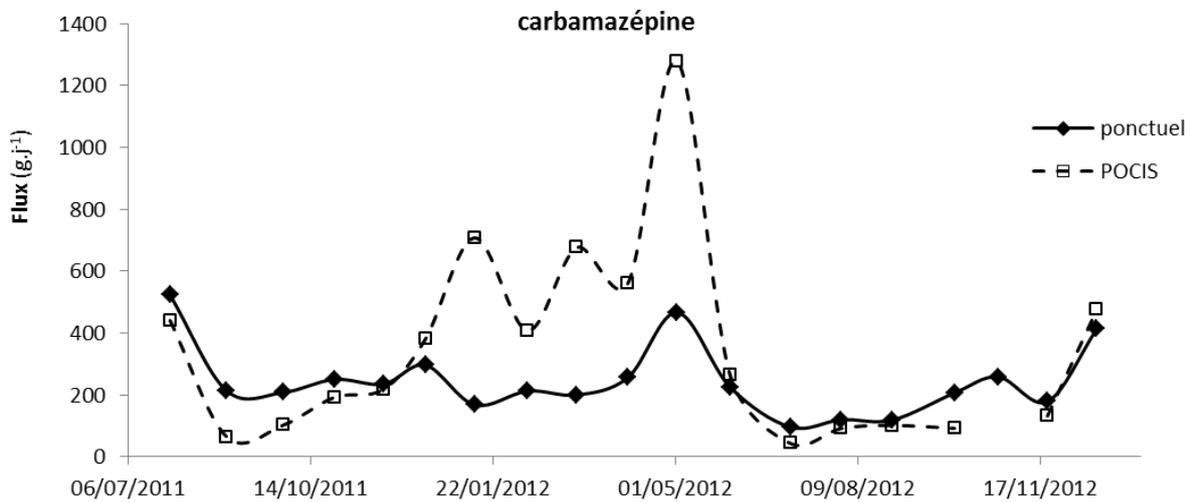


Figure 167. Comparaison du flux mesuré à St-Macaire par prélèvement ponctuel et par échantillonnage passif.

Ainsi, les flux mesurés en mars-avril 2012 à La Réole se situent dans la moyenne des flux mesurés sur l'intégralité des campagnes à St-Macaire. Compte tenu de la variabilité de l'apport amont, les contributions relatives entre STEP et amont (préalablement identifiées Figure 163) peuvent varier, selon la période de l'année, de la moitié au double.

Il a été mentionné précédemment (cf. chapitre 4.1, section 1.3.6) l'arrêt de la commercialisation du méprobamate en janvier 2012. La Figure 168 présente les flux de carbamazépine et de méprobamate mesurés à St-Macaire. A partir du prélèvement du 10/02/12, une diminution du flux en méprobamate est observée, jusqu'à des valeurs 10 fois plus faibles en 2012 qu'en 2011.

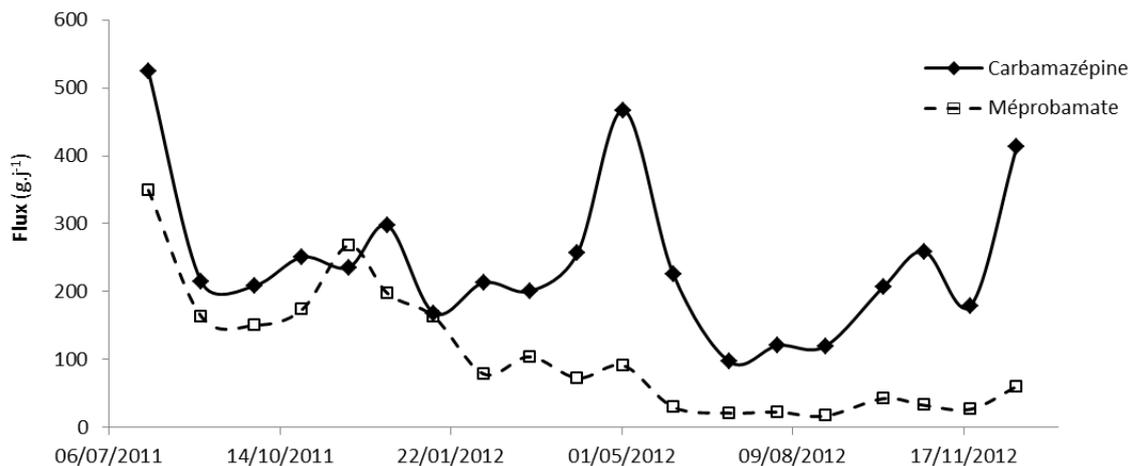


Figure 168. Flux comparés de carbamazépine et de méprobamate à Saint-Macaire.

L'apport global du bassin versant de la Garonne situé en amont de la Gironde a été évalué afin de le comparer au flux mesuré à Saint-Macaire. Ce calcul est possible en se basant sur des molécules persistantes comme l'oxazépan et la carbamazépine, présentant l'intérêt de dépendre peu du traitement en STEP. Les contributions des habitants de la CUB (cf. chapitre 4.1, section 1.6) sont extrapolées aux contributions des habitants du bassin versant dans sa totalité. Un habitant relié à la STEP Clos de Hilde est responsable d'un apport à la Garonne de 0,27 mg.j⁻¹ d'oxazépan et de 0,13 mg.j⁻¹ de carbamazépine. La population estimée du bassin versant est de 4 millions d'habitants (Agence de l'Eau Adour-Garonne, communication personnelle), à laquelle on retranche la population de l'aire urbaine de Bordeaux (1,1 million d'habitants). Le flux approximatif arrivant à l'amont de l'estuaire est calculé puis comparé au flux moyen mesuré à Saint-Macaire (Figure 169).

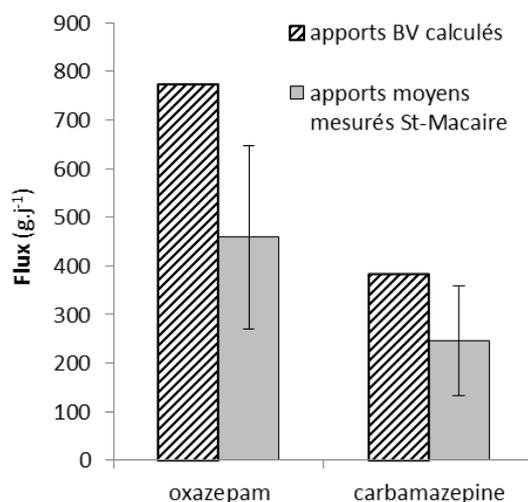


Figure 169. Comparaison des flux calculés par contribution du bassin versant et mesurés à Saint-Macaire pour 2 traceurs persistants. n=20.

Les ordres de grandeur sont respectés, le flux mesuré étant pour les deux molécules de l'ordre de 60 % de la contribution du bassin versant. S'agissant d'une population approximative, il n'est pas possible d'attribuer cette différence à une disparition des composés ou à un biais calculatoire.

Cependant, une certaine proportion des habitants disposant d'assainissement non collectif, le calcul fondé sur des contributions individuelles peut conduire à une surestimation au niveau du bassin versant, même pour des traceurs persistants, compte tenu de la part de médicament non rejetée aux affluents du bassin versant.

Ter Laak *et al.* (2010) ont étudié la corrélation des concentrations en médicaments mesurées dans le Rhin aux prescriptions faites sur son bassin versant. Sans prendre en compte les taux de métabolisation, l'élimination en STEP ni la dégradation dans le milieu, une différence de moins d'un facteur 2 entre concentration mesurée et prédite a été observée pour 14 des 20 molécules étudiées. Néanmoins, les auteurs ont insisté sur l'importance de suivis environnementaux fréquents afin de permettre les comparaisons à des concentrations moyennes gommant les variabilités dues aux conditions environnementales.

3.4 Etudes complémentaires

3.4.1 Cas des filtres UV dans la Gironde

a) Occurrence et gamme de concentration

Les filtres UV ont fait l'objet de campagnes spécifiques par échantillonnage ponctuel aux points de prélèvement amont La Réole et Pessac-sur-Dordogne, Bègles et Bordeaux les 25/03/13, 08/04/13 et 22/04/13.

La Figure 170 présente les concentrations relevées dans la phase dissoute pour les 5 filtres UV détectés, le 4-MBC n'ayant jamais été détecté. Comme dans les effluents de sortie de STEP, les concentrations maximales sont relevées pour l'octocrylène. En revanche, l'oxybenzone est 15 à 20 fois moins concentré que l'octocrylène alors qu'il est déversé en Garonne par la STEP Clos de Hilde aux mêmes concentrations. Par analogie avec les niveaux de concentrations relatifs des différents médicaments en STEP et dans l'estuaire, il est fait l'hypothèse que l'oxybenzone est plus sujet à dégradation que l'octocrylène.

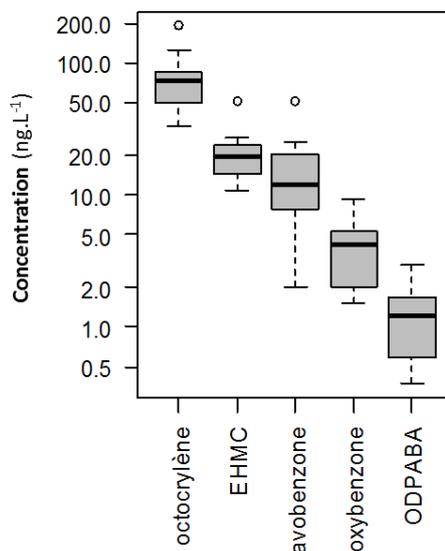


Figure 170. Concentrations mesurées en filtres UV dans l'estuaire. n=12.

Les analytes présentent des concentrations du même ordre de grandeur entre Bordeaux et les points amont, il est cependant difficile de dégager des tendances compte tenu du faible nombre d'échantillons.

L'octocrylène est mesuré dans l'estuaire à des concentrations relativement supérieures à celles rapportées dans la littérature : 6-14 ng.L⁻¹ en rivière japonaise (Kameda *et al.*, 2011), 16 ± 1 ng.L⁻¹ dans une rivière en Allemagne (Rodil et Moeder, 2008a), < 18 ng.L⁻¹ en rivière espagnole (Rodil *et al.*, 2008) et jusqu'à 5 ng.L⁻¹ dans des lacs suisses (Balmer *et al.*, 2005). En revanche, l'oxybenzone a été quantifié à des niveaux de concentration plus élevés dans d'autres études, de l'ordre de plusieurs dizaines de nanogramme par litre et jusqu'à 55 ng.L⁻¹ (Balmer *et al.*, 2005 ; Gago-Ferrero *et al.*, 2013b ; Kameda *et al.*, 2011 ; Rodil et Moeder, 2008a ; Rodil *et al.*, 2008). De possibles différences d'usage des molécules, déjà évoquées au sujet des effluents de STEP (*cf.* chapitre 4.1, section 1.5), peuvent être à l'origine de ces observations. L'ODPABA a été mesuré à des concentrations similaires, de l'ordre du nanogramme par litre dans plusieurs études (Kameda *et al.*, 2011 ; Rodil et Moeder, 2008a) alors que le 4-MBC, non détecté dans l'estuaire, a été détecté dans des eaux suisses, espagnoles et allemandes (Balmer *et al.*, 2005 ; Gago-Ferrero *et al.*, 2013b ; Rodil et Moeder, 2008a). Par ailleurs, la présence d'avobenzone dans des eaux de surface n'a pas été rapportée dans la littérature.

A partir des débits mesurés lors de la campagne spécifique aux filtres UV, le flux amont en phase dissoute est calculé puis comparé au flux estimé sortant des STEP de l'agglomération bordelaise en phase dissoute déterminé dans le chapitre 4.1, section 1.6 (Tableau 81).

Tableau 81. Flux amont et STEP calculés pour les filtres UV en phase dissoute.

Flux (g.j ⁻¹)	oxybenzone	avobenzone	EHMC	ODPABA	4-MBC	octocrylène
La Réole	210 ± 130	1520 ± 1480	1360 ± 480	90 ± 60	< 0,4	5990 ± 1660
STEP CH + LF	14 ± 4	2 ± 2	2 ± 1	< 0,01	1 ± 1	17 ± 11

L'amont apporte, selon les molécules, un flux de 20 à 1000 fois supérieur au flux des STEP de l'agglomération bordelaise. Néanmoins, les filtres UV, relativement hydrophobes, sont susceptibles de s'adsorber aux particules et il s'agit ici uniquement du flux de la phase dissoute. Kameda *et al.* (2011) ont ainsi mis en évidence la présence d'octocrylène et EHMC à des concentrations pouvant dépasser 600 ng.g⁻¹ dans des sédiments de rivière au Japon.

L'étude des filtres UV dans la Gironde doit être complétée par l'analyse de la fraction fixée sur les particules, ce qui nécessite le développement d'un protocole d'extraction des matrices solides. Par ailleurs, il serait également intéressant de compléter ces observations par un suivi annuel puisqu'il a été démontré la saisonnalité des filtres UV en STEP (*cf.* chapitre 4.1, section 1.5.2).

b) Comparaison échantillonnage ponctuel – échantillonnage passif

Des POCIS Nylon (porosité 30 µm), adaptés à l'échantillonnage des filtres UV, ont été exposés dans l'estuaire du 28/08/12 au 01/10/12 (5 points) et du 25/03/13 au 22/04/13 (4 points). Il a été vu dans le chapitre 3.2, section 2.1.2 que l'accumulation des filtres UV est linéaire sur 7 j avec ces dispositifs dans les conditions de la calibration.

Les constantes d'élimination des PRC dans la calibration et pour les 2 campagnes menées en Gironde sont examinées dans le Tableau 82.

Tableau 82. Constantes d'élimination comparées de la calibration et des campagnes en Gironde.

Constante d'élimination j^{-1}	calibration	campagne du 28/08/12 au 01/10/12					campagne du 25/03/13 au 22/04/13			
		Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	St-Macaire	Bordeaux	Bègles	La Réole	Pessac/D
caféine ¹³ C	0,089	0,13	0,19	0,13	0,13	0,12	0,038	0,029	0,045	0,036
salbutamol D3	0,10	0,16	0,21	0,17	0,16	0,13	0,055	0,044	0,067	0,074
DIA D5	0,062	0,14	0,22	0,16	0,16	0,10	0,025	0,018	0,033	0,027

Les constantes d'élimination de la campagne d'été 2012 sont toutes supérieures à celles de la calibration, résultat attribué à la température élevée des eaux et à la durée d'exposition de 34 j. Dans ces conditions et sous l'hypothèse d'échanges isotropes, les accumulations sont linéaires seulement sur quelques jours. Cette campagne est uniquement utilisable pour fournir des informations qualitatives sur la présence des analytes. En revanche, les constantes d'élimination de la campagne du printemps 2013 sont inférieures d'un facteur de 2 à 3 à celles mesurées pour la calibration, avec une phase linéaire estimée de 14 à 21 j. Les POCIS ayant été exposés 28 j, ils permettent d'accéder à une donnée semi-quantitative.

Lors de la campagne d'été 2012 (Tableau 83), l'octocrylène, l'EHMC et l'ODPABA ont été systématiquement détectés. L'octocrylène, malgré un taux d'échantillonnage faible ($0,018 \text{ L.j}^{-1}$ contre $0,27 \text{ L.j}^{-1}$ pour l'oxybenzone) est quantifié dans la phase réceptrice des POCIS à concentrations élevées, ce qui confirme sa présence à des teneurs dans l'eau relativement supérieures aux autres filtres UV. L'oxybenzone n'a pas été détecté à Libourne et Saint-Macaire, suggérant des apports urbains à proximité de Bordeaux. Comme pour le prélèvement ponctuel, le 4-MBC n'est jamais détecté, malgré un taux d'échantillonnage élevé ($0,37 \text{ L.j}^{-1}$) soulignant son absence même à faible concentration. Une fois l'équilibre atteint, les POCIS donnent une image de la contamination de l'eau au moment de leur relève (Belles, 2012). En partant du principe que tous les échantillonneurs avaient atteint l'équilibre, le point Bègles apparaît être le plus contaminé le 01/10/12 (Tableau 83).

Tableau 83. Concentrations en filtres UV mesurées dans les POCIS exposés du 28/08/12 au 01/10/12 en Gironde. ND : non détecté.

Analyte	Concentration POCIS (ng.g^{-1} phase)				
	Pauillac	Libourne	Bordeaux	Bègles	St-Macaire
Oxybenzone	43	ND	434	635	ND
Avobenzone	ND	ND	ND	ND	ND
EHMC	486	598	491	837	625
ODPABA	42	16	31	43	24
4-MBC	ND	ND	ND	ND	ND
Octocrylène	231	248	448	1331	354

Les concentrations équivalentes dans l'eau mesurées par échantillonnage passif pour la campagne du printemps 2013 sont données dans le Tableau 84.

Tableau 84. Concentrations équivalentes (ng.L⁻¹) dans l'eau mesurées par échantillonnage passif. Les concentrations sont prises comme la moyenne des concentrations calculées *via* chaque PRC individuellement. ND : non détecté.

Analyte	Concentration équivalente (ng.L ⁻¹)			
	Pessac/D	La Réole	Bègles	PAB
Oxybenzone	4,7 ± 1,4	1,1 ± 0,2	6,4 ± 1,3	14,4 ± 2,2
Avobenzone	49 ± 14	ND	43 ± 9	72 ± 11
EHMC	35 ± 10	22 ± 3	60 ± 12	35 ± 5
ODPABA	2,2 ± 0,6	0,3 ± 0,04	2,6 ± 0,5	3,2 ± 0,5
4-MBC	ND	ND	ND	ND
Octocrylène	224 ± 65	138 ± 19	305 ± 61	583 ± 89

L'avobenzone est détecté à 3 des 4 points de prélèvement, le 4-MBC n'est pas détecté. Le classement des molécules par niveau de contamination global est analogue à celui établi à partir des prélèvements ponctuels. Les concentrations à Bordeaux sont équivalentes aux concentrations moyennes des points amont en EHMC et avobenzone, approximativement 3 fois plus élevées en octocrylène et ODPABA et 5 fois plus élevées en oxybenzone.

Le rapport entre la concentration équivalente mesurée par POCIS et la concentration mesurée par prélèvement ponctuel est donné par point de prélèvement dans le Tableau 85.

Tableau 85. Rapport moyen entre la concentration équivalente mesurée par POCIS et la concentration mesurée lors des 3 prélèvements ponctuels couvrant la période d'exposition des POCIS. n=3.

Analyte	Rapport C _{POCIS} /C _{ponctuel}			
	Pessac/D	La Réole	Bègles	Bordeaux
Oxybenzone	1,6 ± 1,2	0,5 ± 0,3	1,6 ± 1	3,7 ± 1,4
Avobenzone	10 ± 12,4	ND	4,3 ± 1,8	5,2 ± 1,7
EHMC	1,4 ± 0,6	1,5 ± 0,6	3,8 ± 1,1	2 ± 0,5
ODPABA	2,4 ± 2,1	0,4 ± 0,3	2,7 ± 1,3	3,2 ± 2,2
4-MBC	ND	ND	ND	ND
Octocrylène	3,5 ± 2,5	2 ± 0,8	6,3 ± 2,7	7,5 ± 0,9

Les niveaux de concentration déterminés à partir des POCIS-Nylon sont supérieurs à ceux déterminés par prélèvement ponctuel jusqu'à un facteur 7,5 (octocrylène). Les rapports entre concentrations équivalentes par POCIS et concentrations mesurées par prélèvement ponctuel dépendent des points de prélèvement et des composés : Bègles et Bordeaux sont les points pour lesquels le rapport est le plus élevé, l'octocrylène et l'avobenzone sont les composés au rapport le plus élevé.

Les différences entre l'échantillonnage passif et l'échantillonnage ponctuel doivent être approfondies. La taille des pores des membranes en Nylon étant de 30 µm contre un seuil de coupure des filtres GF/F de 0,7 µm pour le prélèvement ponctuel, une proportion de molécules associées à la matière organique dissoute, à de fines particules ou à des colloïdes pourrait être échantillonnée par les POCIS et non par prélèvement ponctuel. La proportion d'analyte porté par la phase colloïdale (discutée chapitre 3.2, section 2.2) pourrait en effet être importante pour les filtres UV au comportement hydrophobe. D'autre part, la calibration pourrait être répliquée afin de

confirmer les taux d'échantillonnage, ceux-ci ayant pu présenter un biais en raison du fort biofilm qui s'est développé sur les échantillonneurs (*cf.* chapitre 3.2, section 2.1.2). Si le biofilm ralentit l'accumulation des composés, alors les taux d'échantillonnage en laboratoire sont sous-évalués, leur application dans des conditions *in-situ* sans biofilm pourrait exacerber la concentration équivalente calculée, comme observé. Enfin, si la désorption des PRC et l'accumulation des analytes n'est pas isotrope, il est possible que l'équilibre d'accumulation soit atteint rapidement dans les dispositifs et ce, même si les désorptions des PRC sont lentes. Ce cas de figure entrainerait la détermination de concentrations équivalentes plus faibles que les concentrations réelles du milieu, ce qui n'est pas le cas ici. Cependant, l'approche PRC, initialement développée pour les POCIS classiques, est peu renseignée pour les POCIS-Nylon. Belles *et al.* (2013a) suggèrent que la correction par PRC n'est adaptée que pour les molécules dont l'accumulation n'est pas gouvernée par les processus de diffusion membranaire, or les filtres UV le sont puisqu'ils sont affectés d'une phase de latence dans les POCIS classiques, ce qui peut limiter l'applicabilité de l'approche PRC dans ces dispositifs.

3.4.2 Variations inter-journalières à Cadaujac

Le point de prélèvement Cadaujac a fait l'objet d'un suivi journalier d'un mois en novembre-décembre 2011. Les 28 prélèvements ont eu lieu dans toutes les conditions du cycle de marée (flot, jusant, basse mer, pleine mer). Les concentrations de carbamazépine sont données Figure 171 : elles varient progressivement, de 10 à 20 ng.L⁻¹, sans rapport avec le débit fluvial ni les conditions de marée ; or le point Cadaujac se situe à 7 et 16 km en amont des rejets de Clos de Hilde et Louis Fargue, respectivement, et subit donc leur influence au flot. L'absence de variations sensibles des concentrations en carbamazépine indique une faible influence de la marée dans les conditions hydrologiques de cette campagne.

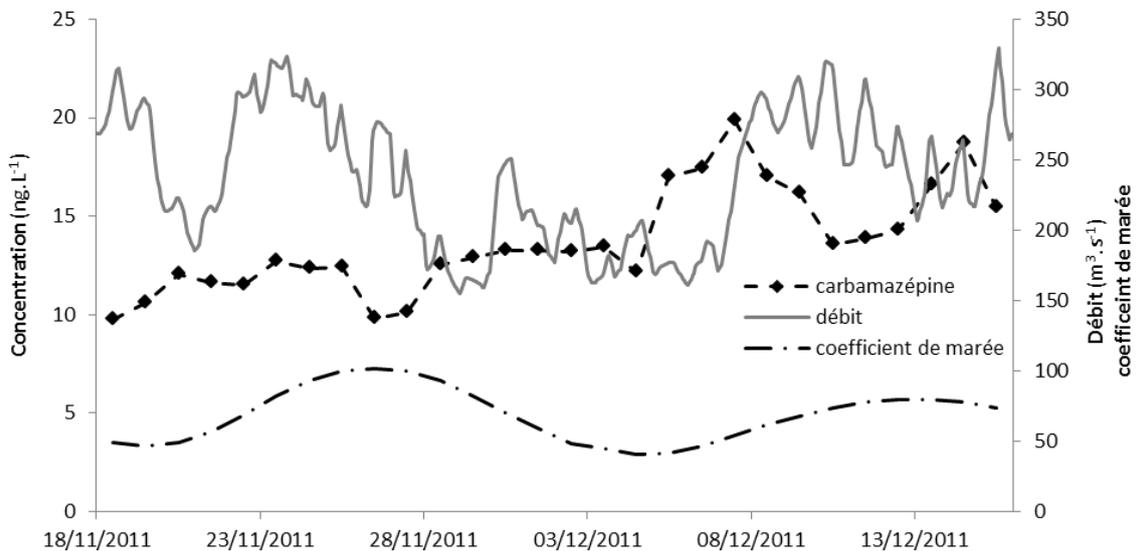


Figure 171. Concentration en carbamazépine, débit de la Garonne et coefficient de marée du 18/11/11 au 15/12/11.

La variabilité inter-journalière au cours de cette campagne a été calculée pour les analytes détectés dans plus de la moitié des échantillons au-delà de leur LQ pondérée du facteur de robustesse f (Tableau 86). Les écarts-types relatifs sont inférieurs à 50 % pour une majorité de molécules, y compris certaines molécules apportées majoritairement par les STEP de la CUB comme le losartan ou le naproxène.

Tableau 86. Variabilité mesurée sur la campagne d'un mois à Cadaujac pour les molécules détectées dans plus de la moitié des échantillons au-delà de leur LQ pondérée du facteur de robustesse f . La valeur calculée par exclusion des 3 fortes concentrations du diclofénac est donnée entre parenthèses.

Analyte	Ecart-type relatif %
oxazépam	14
méprobamate	26
naproxène	30
diclofénac	130 (29)
paracétamol	87
gemfibrozil	35
bézafrate	22
acide fénofibrique	55
bisoprolol	28
propranolol	47
sotalol	15
acébutolol	18
carbamazépine	19
caféine	47
théophylline	56
losartan	34

Les variabilités plus élevées du paracétamol s'expliquent à la fois par sa dégradabilité et la forte variabilité de son émission, dépendante de la pluviométrie et du bon fonctionnement des STEP (*cf.* chapitre 4.1, section 1.4.4). Le diclofénac a une variabilité élevée en raison de fortes concentrations mesurées sur 3 jours consécutifs à partir du 28/11/11. Ces concentrations, confirmées par l'analyse en réplicats des échantillons concernés, ne sont pas corrélées à la marée, au débit ou à la pluviométrie. Cette observation, spécifique au diclofénac, reste inexpliquée.

3.4.3 Etude spécifique à proximité du rejet

De façon à caractériser l'impact local du rejet de la STEP Louis Fargue sur le milieu récepteur, un transect d'une rive à l'autre, situé à 1 km de l'émissaire de sortie de la STEP, a été échantillonné. A 4 instants du cycle de marée (basse mer, mi-flot, pleine mer, mi-jusant), les prélèvements ont été faits en trois points, en surface et en profondeur, à l'aide d'une bouteille Niskin. Ces prélèvements qui ont été effectués à 3 reprises, les 1, 7 et 11 avril 2011, ont permis d'étudier un déversement d'eaux brutes puisque du 4 au 7 avril des travaux de réhabilitation de la STEP Louis Fargue ont entraîné son arrêt et le bypass en Garonne de plus de 330 000 m³ d'effluent non traité *via* 5 déversoirs d'orage du bassin de collecte. Les conditions hydrologiques sont celles de débits fluviaux relativement élevés (supérieurs à la moyenne annuelle de 2011 de 312 m³.s⁻¹) et de coefficients de marée intermédiaires à faibles (Tableau 87).

Tableau 87. Conditions hydrologiques lors des prélèvements.

	01 avril	07 avril	11 avril
Débit moyen journalier ($m^3.s^{-1}$)	490	525	441
Coefficient de marée	74	77	41

L'étude a été ciblée sur 8 médicaments de la liste des 53 molécules : caféine, carbamazépine, ibuprofène, paracétamol, naproxène, diclofénac, gemfibrozil, théophylline.

a) *Différence surface-fond*

La comparaison surface-fond est présentée pour toutes les molécules et pour tous les niveaux de marée dans la Figure 172.

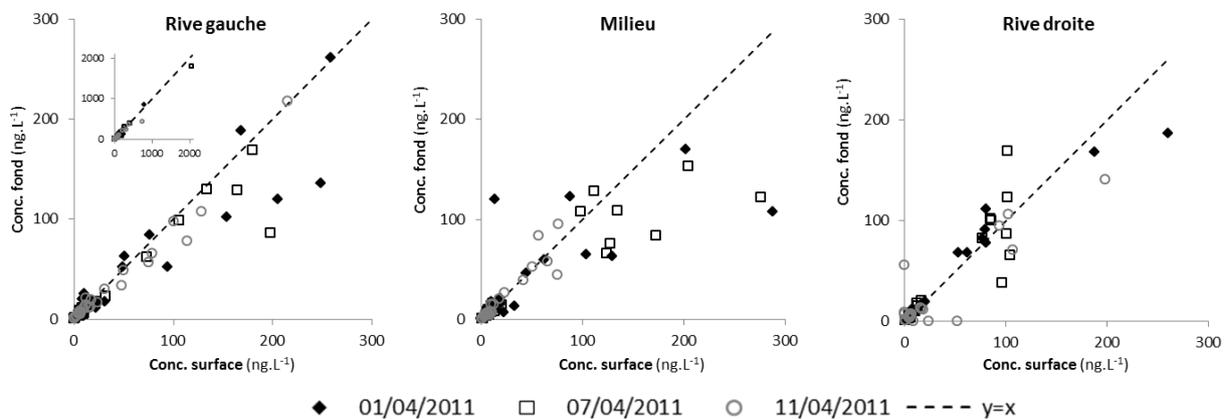


Figure 172. Comparaison des concentrations mesurées en surface et dans le fond pour l'ensemble des molécules et des niveaux de marée.

Les différences entre surface et fond sont faibles mais en rive gauche et au milieu, lors des campagnes du 01/04 et du 07/04 plusieurs concentrations sont supérieures en surface. L'absence de différence significative le 11/04 suggère une moindre stratification de la masse d'eau par petit coefficient de marée. En rive droite, plus à distance du rejet, les concentrations en surface sont peu différentes des concentrations au fond, la colonne d'eau est considérée comme homogène

b) *Transect longitudinal lors d'un cycle de marée*

Les concentrations de surface mesurées en carbamazépine et ibuprofène le long du transect de la Garonne sont maintenant considérées sous différents niveaux de marée lors des 3 campagnes (Figure 173).

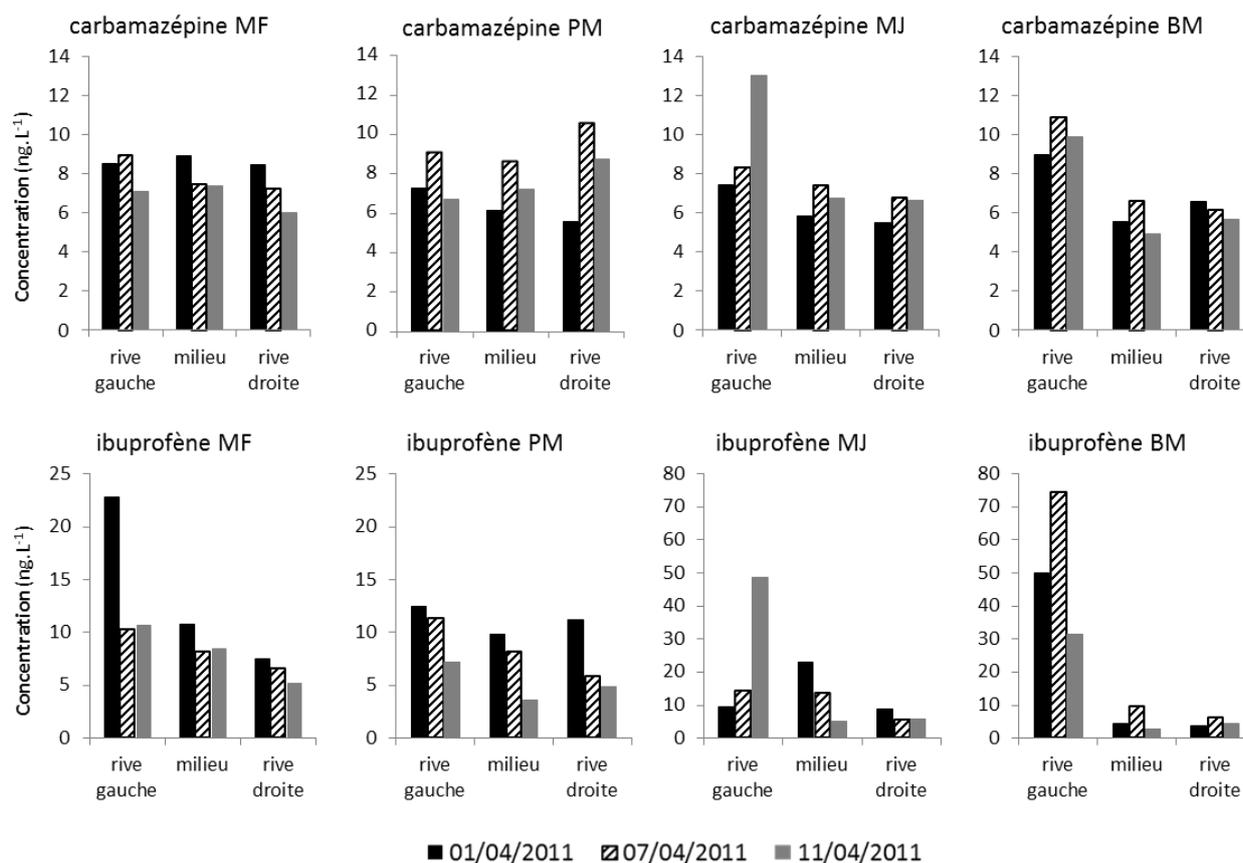


Figure 173. Profils transversaux du site d'étude lors des 3 campagnes et pour 4 niveaux de marée. MF : mi-flot, PM : pleine mer, MJ : mi-jusant, BM : basse mer.

Les concentrations ont tendance à décroître de la rive gauche (côté rejet) vers la rive droite mais de façon modérée en mi-flot, pleine mer et mi-jusant. Le gradient latéral est particulièrement remarquable à basse mer (BM), les courants de marée devenant minimaux et le point rive gauche étant « sous » les rejets. Cette diminution de concentration entre la rive gauche et le reste du transect est variable selon les composés, d'un facteur 1,5 pour la carbamazépine à un facteur 10 pour l'ibuprofène : l'inhomogénéité transversale est plus importante pour les molécules majoritairement émises par la STEP (impact local).

La variabilité pour l'ensemble des molécules est donnée par point du transect, lors d'un cycle de marée dans des conditions normales de fonctionnement de la STEP dans le Tableau 88.

Tableau 88. Variabilité lors d'un cycle de marée (valeur maximale entre les campagnes du 01/04 et du 11/04 de l'écart-type relatif calculé sur les concentrations aux 4 niveaux de marée).

Analyte	Ecart-type relatif		
	%		
	rive gauche	milieu	rive droite
caféine	56	29	12
carbamazépine	32	24	22
ibuprofène	79	65	40
paracétamol	91	95	66
naproxène	64	50	25

Analyte	Ecart-type relatif		
	%		
	rive gauche	milieu	rive droite
diclofénac	49	24	8
gemfibrozil	63	22	17
théophylline	77	39	35

La variabilité est maximale en rive gauche, en raison des concentrations élevées relevées à basse mer. Au milieu et en rive droite, les variabilités sont plus faibles mais restent relativement élevées pour le paracétamol, l'ibuprofène et le naproxène.

L'étude de ce transect indique que le mélange latéral de l'effluent de la STEP avec les eaux de la Garonne est très limité encore 1 km après rejet et n'est probablement total que sur de longues distances, en fonction des conditions de marée et du débit fluvial.

c) Impact du rejet d'eaux brutes

Les augmentations de concentration suite au rejet d'eaux brutes lors de la campagne du 07/04 par rapport à celles des campagnes du 01/04 et du 11/04 sont observées uniquement en rive gauche, à basse mer et sont données dans le Tableau 89.

Tableau 89. Facteur d'augmentation des concentrations rive gauche à basse mer lors de l'épisode de rejet d'eaux brutes par rapport à un fonctionnement normal (7/04/11 par rapport à la moyenne du 01/04/11 et du 11/04/11). Le rendement d'élimination moyen choisi est celui de la STEP Louis Fargue, située à proximité du transect.

Analyte	Facteur d'augmentation	Rendement d'élimination moyen en STEP
caféine	1,8	38 %
carbamazépine	1,2	9 %
ibuprofène	1,8	50 %
paracétamol	3,5	63 %
naproxène	1,3	23 %
diclofénac	1,1	20 %
gemfibrozil	0,9	8 %
théophylline	2,0	16 %

Les carbamazépine, naproxène, diclofénac et gemfibrozil présentent une augmentation mineure lors du rejet d'eaux brutes. Leur rendement d'élimination en STEP étant faible, le rejet d'effluent brut plutôt que traité augmente peu le flux apporté à la Garonne. *A contrario*, les paracétamol, caféine ou ibuprofène, relativement bien abattus en STEP, augmentent sensiblement lorsque les eaux ne sont pas traitées.

Comme il a été observé dans le chapitre 4.1, section 1.4.4, l'impact d'un rejet d'eaux brutes est variable suivant les molécules étudiées : il est quasiment nul au regard des molécules conservatives et peut être critique sur les molécules bien traitées en STEP.

3.5 Etude de la partition dissous-particulaire

3.5.1 Concentrations en MES

Lors des campagnes de juillet, août et octobre 2012 du suivi mensuel, la phase particulaire a été analysée. Les concentrations en MES sont données Figure 174. Pour les 3 campagnes un maximum de MES est observé à Bordeaux, en lien avec la remontée du bouchon vaseux en période d'étiage (débits inférieurs à $110 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ aux 3 campagnes). Les MES à St-Macaire sont de 10 et $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ le 31/07 et le 28/08, respectivement, et atteignent $450 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ le 01/10. Cette valeur plus élevée montre que le bouchon vaseux peut remonter jusqu'à près de 50 km en amont de Bordeaux.

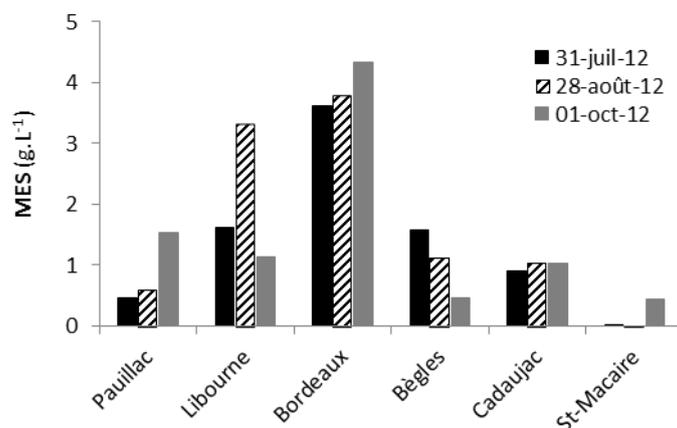


Figure 174. Concentrations en MES mesurées lors des 3 campagnes de suivi des particules.

3.5.2 Occurrence et variabilités par point de prélèvement

Dans les 18 échantillons de particules, 16 molécules sont détectées au moins une fois, dont 6 le sont systématiquement. L'étendue des concentrations moyennes va de la LD à près de $3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (Figure 175).

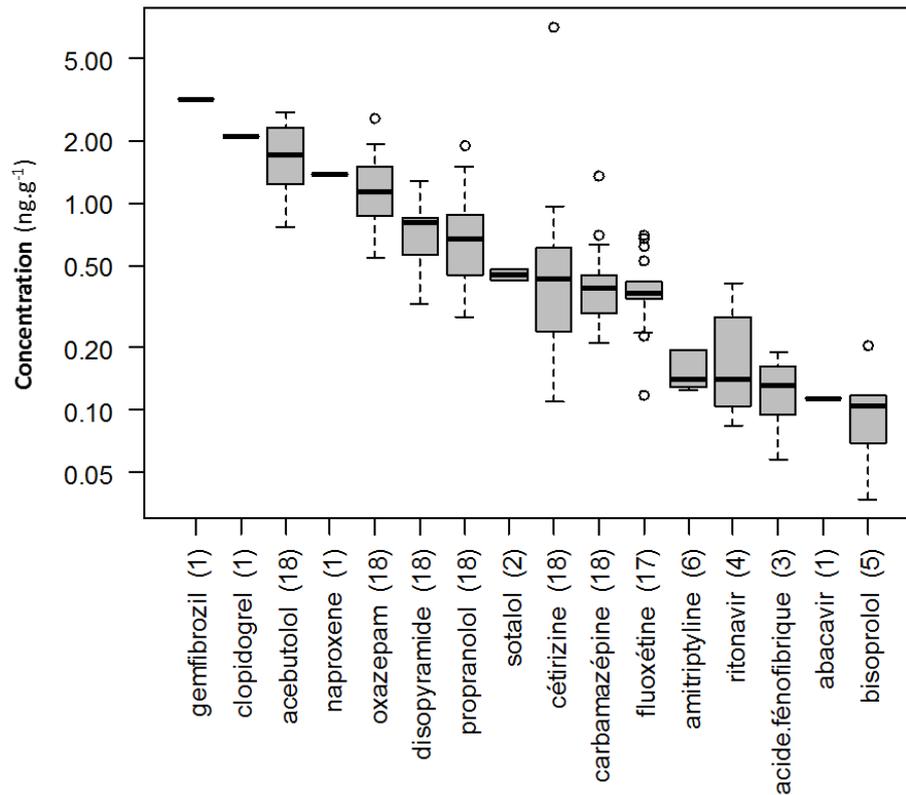


Figure 175. Concentrations mesurées dans les 18 échantillons de particules de l'estuaire. Le nombre de mesures par molécules est précisé entre parenthèses.

Les concentrations mesurées sur les particules de l'estuaire sont sensiblement plus faibles que celles mesurées sur les particules de la Jalle. La concentration d'oxazepam y est par exemple 30 fois plus faible et le nombre de molécules détectées passe de 22 à 16.

Le profil des concentrations moyennes mesurées en phases particulaire et dissoute lors de ces 3 campagnes est donné pour les molécules systématiquement détectées en phase particulaire Figure 176. Excepté à Saint-Macaire, les concentrations dans la phase particulaire suivent la même évolution qu'en phase dissoute, avec un maximum à Bordeaux. Les concentrations à Saint-Macaire, situé en amont du bouchon vaseux (sauf au 01/10/12), sont relativement élevées pour l'oxazepam, le propranolol, la carbamazépine et la cétirizine par rapport aux concentrations mesurées à Bordeaux. Il a été montré que la matière organique particulaire (MOP) n'a pas une composition constante le long de l'estuaire puisqu'environ 50 % de la MOP issue des fleuves y est minéralisée (Etcheber, 1983). Par ailleurs, la corrélation entre teneur en carbone organique élevée et fortes concentrations en médicaments a été évaluée pour les β -bloquants par Ramil *et al.* (2010) et confirmée lors de l'étude des particules issues de l'Ebre, Espagne (Silva *et al.*, 2011). L'adsorption supérieure observée à Saint-Macaire pourrait donc être imputable à cette différence de composition entre les particules à l'amont de l'estuaire et celles contenues dans le bouchon vaseux.

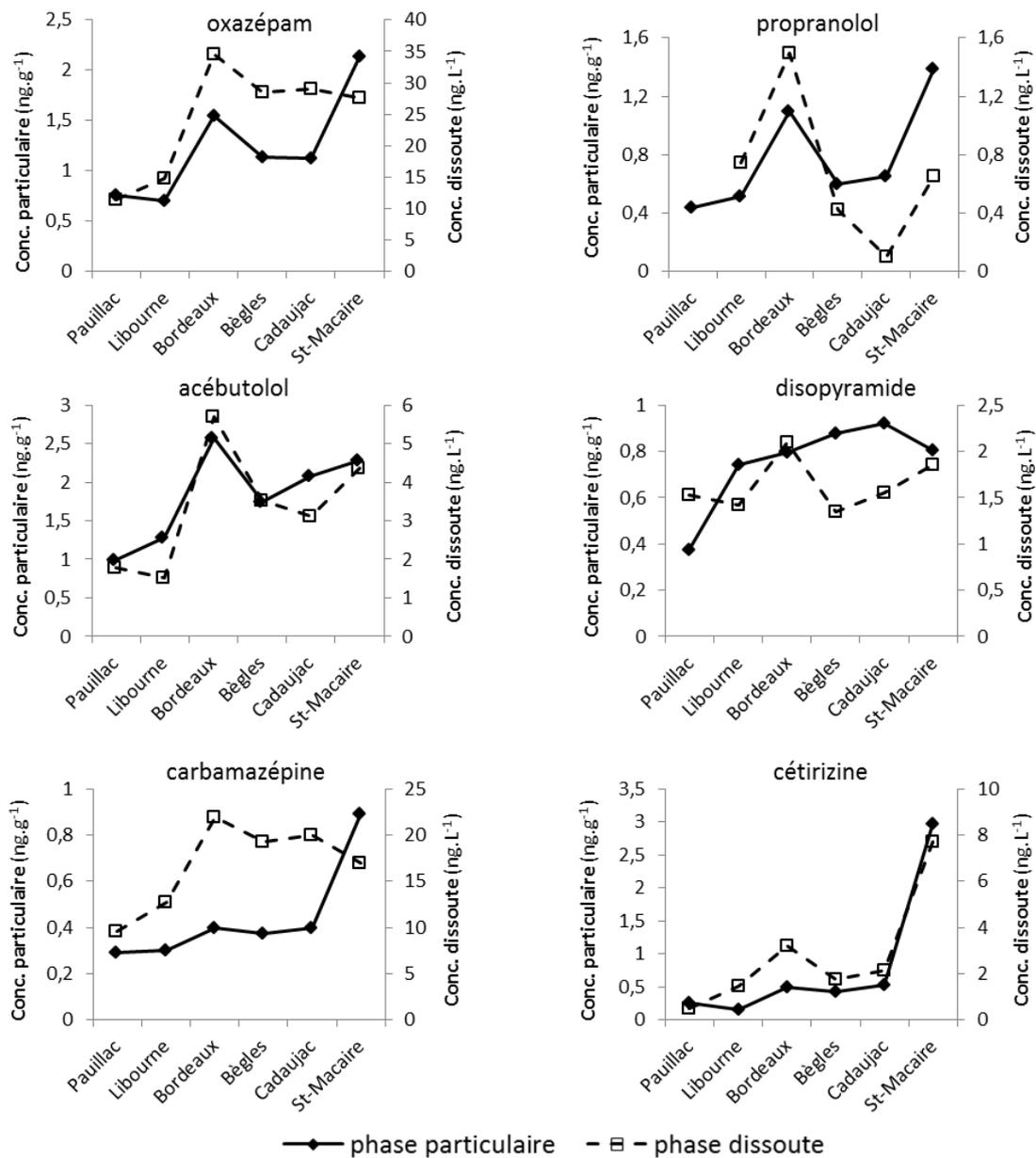


Figure 176. Concentrations moyennes mesurées en phases particulaire et dissoute pour les molécules détectées systématiquement en phase particulaire. n=3.

3.5.3 Partition entre phases dissoute et particulaire

La proportion fixée sur les particules aux différents points de prélèvement de l'estuaire est donnée Figure 177 pour deux molécules-traceurs. En dépit de faibles concentrations dans les particules, la forte teneur en MES engendre une proportion élevée d'analyte fixé sur les particules. La distribution de cette proportion suit celle des MES, avec un maximum au niveau de Bordeaux et un minimum à Saint-Macaire. Les valeurs atteintes à Bordeaux pour les 6 analytes systématiquement détectés sont présentées dans le Tableau 90. Tous les analytes ont des proportions en phase particulaire plus élevées que dans le précédent site d'étude, la Jalle de Blanquefort, d'un facteur 20 (propranolol) à 60 (acébutolol). Par extrapolation des données de la Jalle, des proportions élevées, proches de 100 %, sont attendues.

sont possibles pour le ritonavir et la fluoxétine, molécules les plus hydrophobes mais non détectées dans la phase dissoute de l'estuaire.

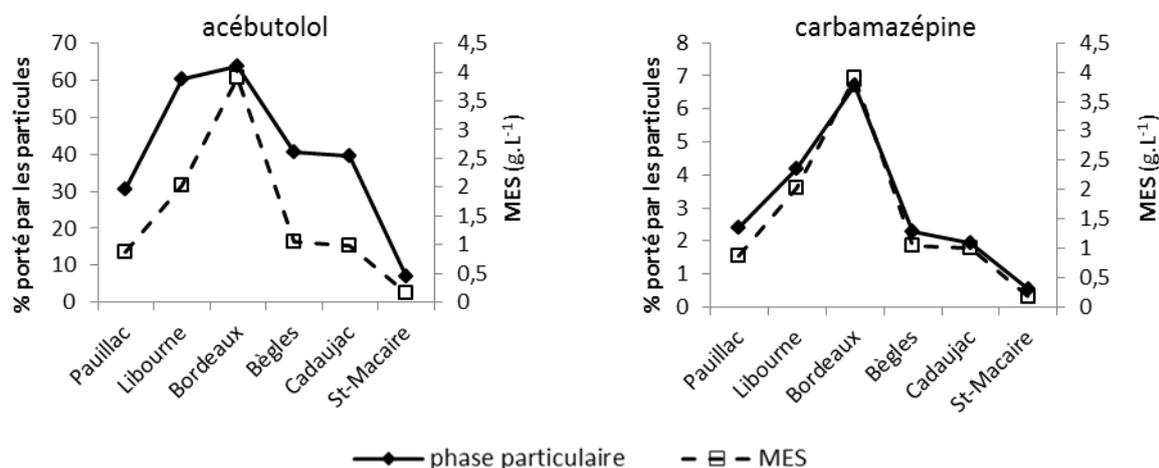


Figure 177. Proportion moyenne d'analyte fixé sur les particules aux différents points de prélèvement de l'estuaire et concentration en MES associée. n=3.

Tableau 90. Proportion moyenne d'analyte fixé aux particules au site Bordeaux. n=3.

Analyte	Proportion fixée aux particules à Bordeaux %
oxazépam	15
propranolol	74
acébutolol	64
carbamazépine	7
cétirizine	37
disopyramide	61

Les coefficients de partage dissous-particulaire ont été comparés entre la Jalle et la Gironde pour les 6 molécules détectées systématiquement dans la Gironde (Figure 178). Les campagnes de l'estuaire ayant été réalisées en été et compte tenu des différences été-hiver observées dans la Jalle, seuls les coefficients de partage calculés sur la campagne de juillet 12 de la Jalle ont été considérés. Aux écarts-types près, les coefficients de partage sont similaires entre ces deux sites, signifiant des facultés d'adsorption des particules des deux milieux analogues.

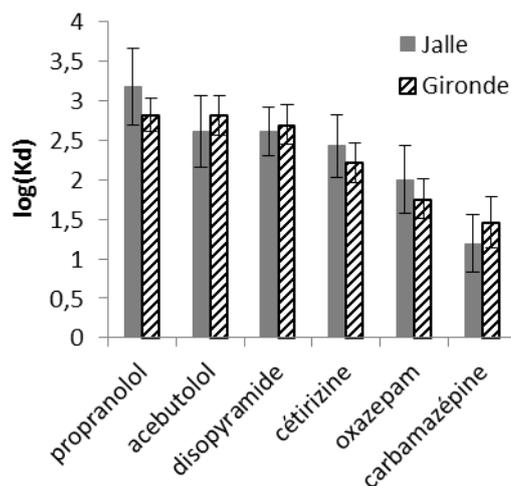


Figure 178. Comparaison des coefficients de partage eau-particules dans la Jalle et dans la Gironde. Jalle : n=14, Gironde : n=18.

La proportion fixée aux particules pourrait augmenter pour de plus basses températures de l'eau, l'influence de la température sur l'équilibre d'adsorption ayant été mis en évidence dans le chapitre 4.2, section 2.2.2. Il serait intéressant de poursuivre ces études en hiver ainsi que d'approfondir l'effet de la salinité sur la partition dissous-particulaire, celle-ci pouvant être responsable d'une adsorption préférentielle sur les particules en milieu salé (« effet salting out », (Turner, 2003))

3.6 Devenir des molécules dans l'estuaire

3.6.1 Approche par les rapports de concentration

L'objectif de cette section est d'étudier la variation saisonnière des comportements moléculaires en fonction de l'hydrologie de l'estuaire. Afin de s'affranchir des effets de la dilution par la marée et des débits fluviaux, la concentration en un analyte donné est normalisée par la concentration en un autre analyte persistant, ici la carbamazépine. Cette approche a déjà été appliquée dans les travaux de Kunkel et Radke (2012) pour étudier l'atténuation de médicaments le long d'une rivière de 12,5 km en s'affranchissant des variabilités propres aux masses d'eaux.

Les rapports de concentration ont été comparés au cours de l'année au point amont, Saint-Macaire, et au point aval, Pauillac. Il est possible de s'affranchir de la variabilité de l'apport des STEP de l'agglomération bordelaise puisqu'il a été montré la constance du flux sortant au cours de l'année (cf. chapitre 4.1, section 1.4.3).

Les concentrations normalisées par la carbamazépine des 6 analytes détectés dans au moins 10 des 12 échantillons de février 12 à décembre 12 pour les sites Saint-Macaire et Pauillac sont présentées Figure 179. A Saint-Macaire, une relative invariabilité de ce rapport est observée pour l'oxazepam et le disopyramide. En revanche, pour la cétirizine, l'acébutolol et surtout le sotalol, le rapport évolue progressivement dans l'année pour atteindre un minimum en été, lorsque les débits sont minimaux et les températures de l'eau maximales.

Ce résultat est attribué à l'augmentation du temps de transit des analytes après rejet aux périodes de faibles débits. Kunkel et Radke (2012), bien qu'examinant des échelles sensiblement plus petites (rivière de 12,5 km, temps de transit inférieur à une journée), ont mis en évidence des pourcentage d'atténuation plus élevés aux faibles débits (temps de transit élevés) qu'aux débits élevés (temps de transit courts). La température supérieure peut également accélérer la dégradation des analytes labiles. Les travaux de (Togola, 2006) ont mis en évidence une stabilité des concentrations en carbamazépine dans l'estuaire de la Seine quand le naproxène, l'ibuprofène et la caféine y présentaient une atténuation saisonnière, en lien avec les débits et le temps de résidence des masses d'eau.

Après traversée de l'estuaire fluvial et amont, à Pauillac, les valeurs des rapports de concentration sont inférieures à celles mesurées à Saint-Macaire, à l'exception du disopyramide. Cette évolution de la composition relative de la masse d'eau est due à la disparition des analytes autres que la carbamazépine, soit par adsorption sur la matière particulaire le long du gradient de salinité soit par dégradation dans l'estuaire. L'évolution saisonnière des rapports de concentration est analogue à celle observée à Saint-Macaire, à la différence près que les concentrations normalisées minimales perdurent un à deux mois supplémentaires, en raison de l'augmentation des temps de résidence dans l'estuaire aux faibles débits. *A contrario*, le rapport est élevé aux débits de crue (02/05/12), les faibles temps de résidence associés à l'effet de chasse provoqué par la crue étant insuffisants pour observer une disparition dans l'estuaire. Celle-ci doit alors se produire en aval du point Pauillac, voire hors de l'estuaire, à temps de résidence égal. Une particule d'eau met en effet quelques jours à traverser l'estuaire pour des débits de crue comme ceux rencontrés en mai 12 contre approximativement 86 j pour des débits d'étiage (Jouanneau et Latouche, 1981). En outre, le facteur entre les maximums et les minimums est plus élevé à Pauillac qu'à Saint-Macaire, illustrant de ce fait le rôle du temps de résidence dans l'estuaire dans les processus de disparition des analytes. La décroissance estivale du rapport de concentration de l'oxazépam à Pauillac, à peine perceptible à Saint-Macaire, indique une disparition également pour ce composé considéré initialement comme persistant. Ce résultat est à confirmer en renseignant l'effet « salting out » qui pourrait, s'il est avéré, entraîner l'atténuation des concentrations en phase dissoute par adsorption sur les particules et donner ce résultat du fait de l'augmentation de la salinité aux faibles débits d'étiage.

Grâce à la diminution des limites de détection par échantillonnage passif, ces observations peuvent s'étendre à 20 analytes, classés en fonction de l'évolution de leur concentration normalisée au cours de l'année (Tableau 91). Les courbes individuelles d'évolution saisonnière des concentrations normalisées sont données en Annexe 18.

Tableau 91. Classement des analytes en fonction de la saisonnalité de la décroissance du rapport de concentration analyte/carbamazépine à St-Macaire.

Stabilité du rapport	Décroissance saisonnière faible	Décroissance saisonnière marquée
névirapine, nordiazépam, diazépam, disopyramide	oxazépam, lorazépam, primidone	abacavir, diclofénac, gemfibrozil, propranolol, sotalol, acébutolol, amitriptyline, cétirizine, losartan, clopidogrel, zidovudine, naproxène, ibuprofène

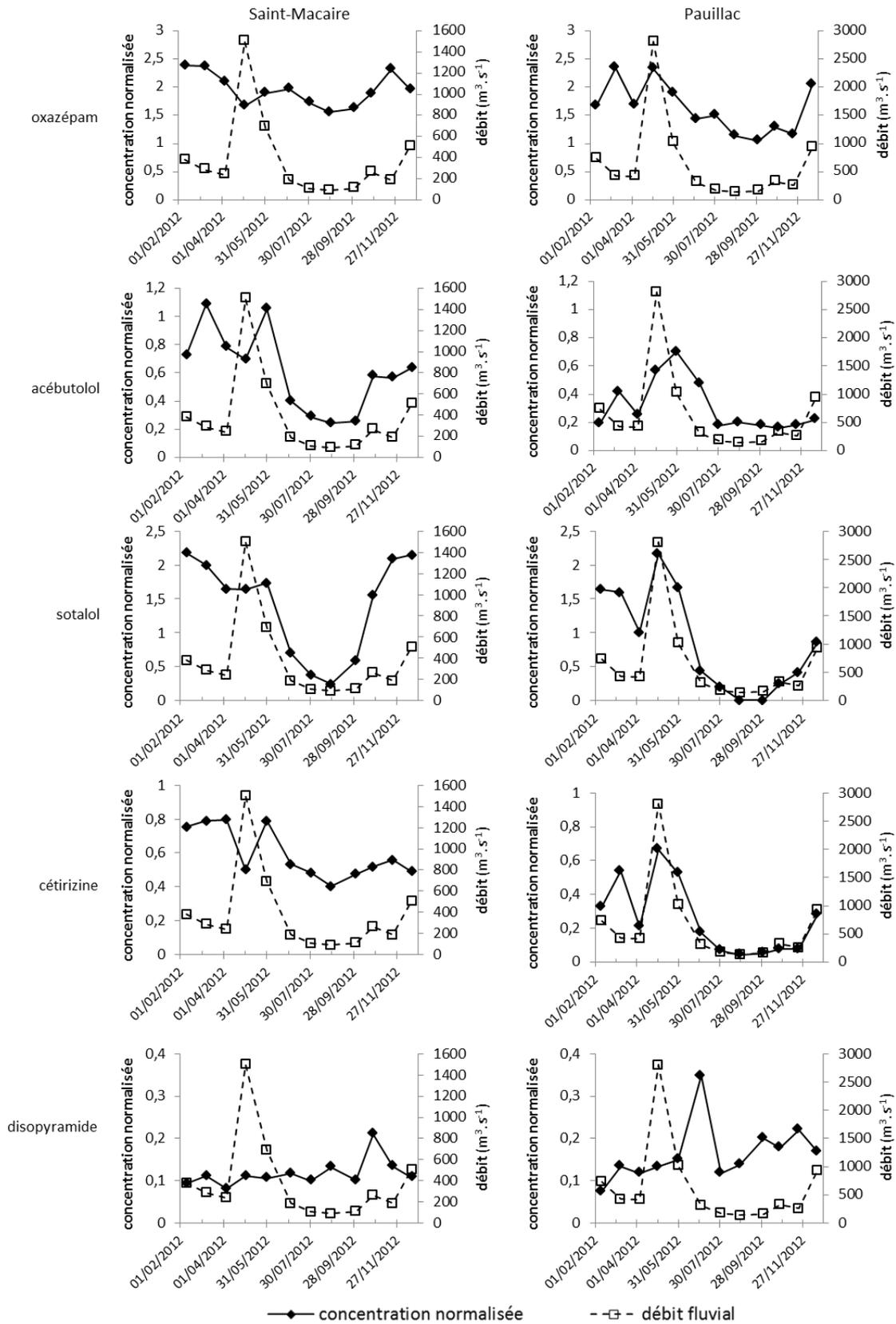


Figure 179. Rapports de concentration analyte/carbamazépine à St-Macaire et Pauillac et débit de la Garonne (St-Macaire) et de la Gironde (Pauillac).

3.6.2 Approche complémentaire par modélisation hydrodynamique

a) Principe et méthode

Cette étude vise à évaluer la variabilité saisonnière de la conservativité des molécules, par la simulation des concentrations dans la Gironde. En effet, en raison de la complexité hydrologique de ce système, il n'est pas envisageable d'étudier la dégradabilité des molécules par simple sommation des flux amont et STEP et comparaison aux flux mesurés à l'aval, comme cela a été fait pour le site de la Jalle de Blanquefort. Un logiciel de modélisation hydrodynamique, Mike 11 (DHI), développé pour la Gironde par Jérôme Schoorens du Lyre permet de prendre en compte l'hydrologie particulière du site d'étude. Le modèle utilisé est unidirectionnel : il permet l'étude des variations longitudinales. Il convient alors de poser l'hypothèse d'homogénéité le long d'un transect, bien qu'il ait été montré à Bordeaux des variations de concentration transversales lors d'un cycle de marée. De la même façon, l'hypothèse d'homogénéité des concentrations sur le transect de plus de 4 km au niveau de Pauillac est discutable mais sera néanmoins considérée comme valide pour cette première approche.

Le logiciel se compose d'un module hydraulique et d'un module advection-dispersion. Le module hydraulique a été optimisé pour la Gironde lors de précédents travaux et sera utilisé tel quel. Il prend en considération les données bathymétriques, les débits fluviaux et les marées. Il a été calé sur les hauteurs d'eau de l'estuaire et offre une bonne adéquation entre les mesures du réseau Magest et les hauteurs d'eau simulées. Le module advection-dispersion gère les variables dissoutes, ici les concentrations en un analyte donné, injecté à l'amont à La Réole et Pessac-sur-Dordogne et aux sorties des STEP Clos de Hilde et Louis Fargue. Les variables sont considérées comme conservatives dans le modèle et c'est la comparaison aux mesures qui renseignera sur leur dégradabilité.

Les traceurs, aux concentrations mesurées à Saint-Macaire et Libourne, sont injectés aux points amont ; les concentrations et débits des effluents des STEP de l'agglomération bordelaise sont, eux, pris constants, en accord avec les résultats du chapitre 4.1, section 1.4.3.

L'initialisation est faite à partir du 01/04/11, le pas de temps de calcul est de 5 min. Compte tenu des temps de calcul d'approximativement 2 h par simulation, l'étude est restreinte à 4 molécules aux comportements distincts : carbamazépine et oxazépam comme traceurs persistants, sotalol et abacavir comme molécules sujettes à dégradation *in-situ* (cf. section 3.6.1 de ce chapitre). Les points de prélèvement pris en considération pour cette modélisation sont : Bègles, Bordeaux et Pauillac.

b) Résultats

La comparaison des concentrations simulées et mesurées en carbamazépine à Bègles (Figure 180) montre une sous-évaluation des concentrations par la simulation. La différence entre mesure et simulation n'est pas constante avec un facteur maximal de 3 atteint l'été. La tendance est néanmoins respectée puisque les concentrations simulées sont maximales en période d'étiage et minimales aux périodes de crue. Ces observations générales sont également valables pour les 3 autres molécules ainsi qu'aux points Bordeaux et Pauillac. Pour un meilleur ajustement des données modèle-mesures, on a pris l'option de normaliser les concentrations simulées des analytes par celle mesurée de la carbamazépine au point et au temps considérés. Ainsi, à Bègles, l'oxazépam montre un bon accord entre les concentrations simulées et la mesure, validant l'approche corrective utilisée (Figure 181).

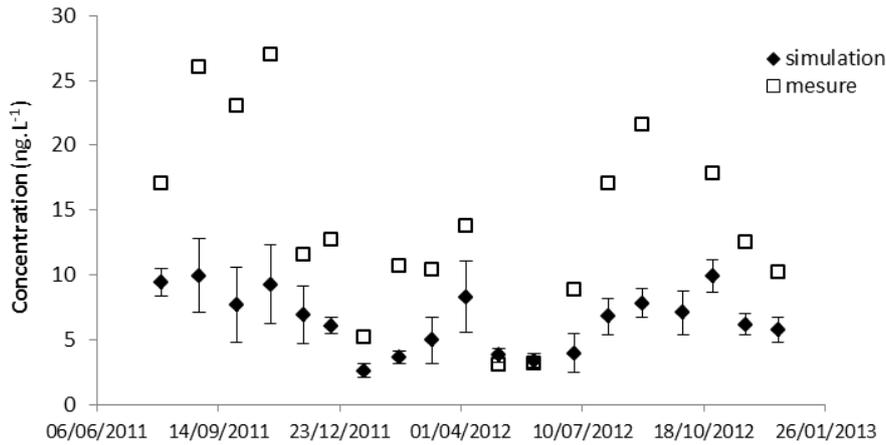


Figure 180. Comparaison des concentrations simulées et mesurées en carbamazépine à Bègles. Pour les données simulées, valeur moyenne des 288 concentrations de la journée, les barres d'erreur correspondant aux minimums et maximums journaliers.

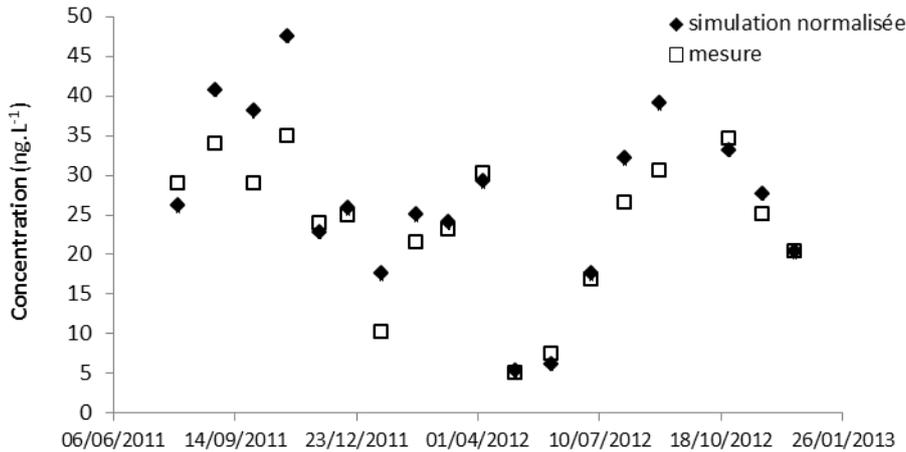


Figure 181. Comparaison des concentrations en oxazépam simulées normalisées par la carbamazépine aux concentrations mesurées en oxazépam à Bègles.

Avec cette méthodologie, la variation du rapport entre les concentrations simulées et mesurées est examinée pour l'oxazépam, le sotalol et l'abacavir (Figure 182). A l'exception du 12/01/12, le rapport pour l'oxazépam est proche de 1 en hiver et au printemps et atteint 1,2 à 1,4 en été et en automne à Bordeaux et Bègles et 1,7 à Pauillac. L'oxazépam disparaît donc de la phase dissoute aux périodes de faibles débits, cette disparition étant plus marquée à Pauillac où les temps de transit depuis les sources sont plus élevés. Ces observations peuvent être généralisées aux deux autres molécules sotalol et abacavir, avec des rapports de concentrations simulées normalisées sur mesurées plus importants que pour l'oxazépam en été et en automne. Ainsi, les concentrations mesurées dans l'estuaire peuvent être de 10 (sotalol) à 30 (abacavir) fois inférieures aux concentrations prédites par modélisation. L'abacavir présente de faibles variations à Bordeaux en été et automne, cette molécule ayant pour principale source les STEP situées à proximité du point de mesure.

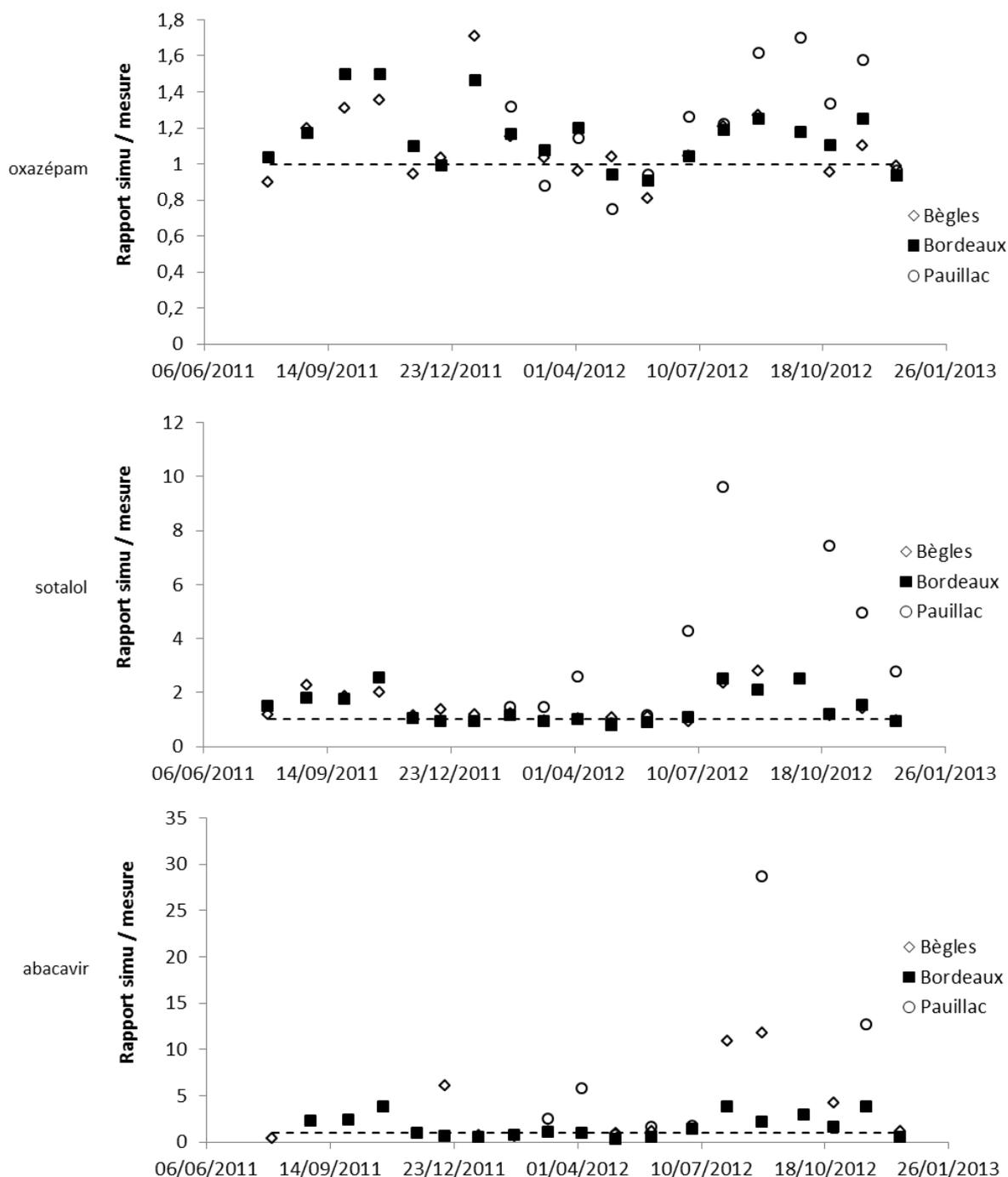


Figure 182. Rapport des concentrations simulées normalisées par la carbamazépine aux concentrations mesurées. Les mesures inférieures à la LQ en abacavir ont été exclues.

Cette approche permet donc de mettre en évidence une disparition *in-situ* saisonnière des analytes. Sans évaluation de l'effet « salting out », il n'est pas possible d'écarter une éventuelle adsorption aux particules, bien que l'hypothèse d'une réelle dégradation soit privilégiée.

La modélisation hydrodynamique est une technique puissante mais nécessitant encore de nombreux calages pour être appliquée à l'estuaire de la Gironde. Les concentrations simulées sont en effet sous-évaluées, l'ajout d'une source diffuse entre La Réole et l'agglomération bordelaise

correspondant aux apports des STEP de cette zone n'ayant pas permis de corriger la différence observée. Par ailleurs, comme l'indiquent les barres d'erreur de la Figure 180, les variations dues au cycle tidal sont élevées, en contradiction avec les mesures réalisées à Cadaujac présentées en section 3.4.2 de ce chapitre. Le modèle paraît donc plus affecté par la marée que ce que suggère les mesures.

3.7 Conclusions

Niveaux de concentration

Jusqu'à 36 médicaments (/53) ont été détectés dans l'estuaire par prélèvement ponctuel, 37 (/44) par échantillonnage passif, les taux de détection étant maximaux à Bordeaux. **La mesure par POCIS permet un abaissement des limites de détection en offrant un bon accord des niveaux de concentrations avec la mesure par prélèvement ponctuel.** Les mesures effectuées par POCIS dans des conditions hivernales extrêmes sont toutefois aberrantes et l'utilisation de l'outil dans ces conditions nécessite des études complémentaires. Concernant les filtres UV, 5 des 6 analytes sont détectés dans l'estuaire, par prélèvement ponctuel comme par échantillonnage passif. En revanche, l'accord entre les deux méthodes de mesure n'est pas parfait, les concentrations équivalentes mesurées par POCIS pouvant être jusqu'à 7 fois supérieures. Cette différence de mesure pourrait être attribuée à la part d'analyte portée par la phase colloïdale et à la différence de fraction échantillonnée : $< 30 \mu\text{m}$ pour les POCIS Nylon contre $< 0,7 \mu\text{m}$ par prélèvement ponctuel. L'utilisation de cet outil, bien que prometteur, nécessite encore de plus amples travaux.

Sources et variabilités des analytes dans l'estuaire

L'examen comparé des flux provenant de l'amont de l'estuaire et de ceux provenant des effluents de l'agglomération bordelaise permet de renseigner la source majoritaire de chaque molécule dans la Gironde. **L'apport des STEP est majoritaire pour plus de la moitié des médicaments**, jusqu'à un facteur 10 pour le losartan ou l'abacavir, alors que l'oxazépam et la carbamazépine proviennent aux 2/3 de l'amont. Les mesures effectuées pour les filtres UV suggèrent une source amont largement majoritaire. Par ailleurs, le suivi annuel des flux entrant dans l'estuaire à Saint-Macaire indique des variations d'un facteur 4 selon la période de l'année, les valeurs les plus faibles ayant été observées en été.

Le profil longitudinal indique une dilution progressive avec les eaux marines de l'amont vers l'aval lorsque les molécules sont apportées majoritairement par l'amont. Dans le cas d'un apport majoritaire par les STEP de l'agglomération bordelaise, les concentrations relevées à Bordeaux peuvent être jusqu'à 5 fois supérieures aux concentrations des autres points (cas de l'abacavir).

Les concentrations aux différents points de l'estuaire sont anti-corrélées aux débits, **comportement typique d'une dilution**. Pour les molécules bien dégradées en STEP, des augmentations ponctuelles de concentration s'ajoutent au profil de dilution lors des épisodes de fortes pluies ayant entraîné le rejet d'effluents non traités.

L'étude des niveaux de concentration quotidiens de 16 analytes sur 28 j à Cadaujac indique des variations progressives des concentrations, sans rapport avec le débit fluvial ni les conditions de marée. L'influence de la marée a toutefois pu être montrée lors de l'étude du cycle de marée à proximité des rejets de la STEP Louis Fargue : à basse mer, lorsque les courants sont faibles, les concentrations sont maximales en rive gauche, côté rejet. Aux autres moments du cycle de marée et aux autres points du transect, en surface comme en profondeur, les concentrations sont relativement homogènes.

Partage phase dissoute-phase particulaire

Jusqu'à 16 médicaments ont été détectés dans les particules prélevées en Gironde, les concentrations y étant faibles, 30 fois inférieures à celles mesurées dans la Jalle de Blanquefort pour l'oxazépam. Les concentrations en phase particulaire suivent la même évolution longitudinale que celles en phase dissoute. En dépit de faibles concentrations sur les particules, la forte teneur en MES engendre une proportion élevée d'analyte fixé sur les particules, jusqu'à 74 % dans le cas de propranolol. Puisqu'on compte 4 à 5 mégatonnes de particules en suspension dans le bouchon vaseux (cf. chapitre 1, section 7.5), on calcule que celui-ci contient 4 à 5 kg d'oxazépam, 1,6 à 2 kg de carbamazépine et 10 à 13 kg d'acébutolol sous forme particulaire, si ces molécules n'y sont pas dégradées.

Devenir des molécules dans l'estuaire

Les approches par rapports moléculaires et par modélisation ont mis en évidence une **disparition des analytes de la phase dissoute**, cette disparition n'étant pas équivalente au cours de l'année et selon les points de prélèvement. A l'amont de l'estuaire, les concentrations relatives des molécules les plus dégradables sont minimales en été et à l'automne, lorsque les températures de l'eau sont élevées et que les temps de transit du point de rejet à l'entrée de l'estuaire sont longs, les débits étant faibles. Sur les 20 analytes pour lesquels ces observations sont possibles, 13 présentent cette disparition saisonnière. A Pauillac, pour ces molécules, les concentrations relatives sont encore inférieures, la disparition des analytes étant vraisemblablement accentuée par l'action du bouchon vaseux et par l'augmentation des temps de résidence dans l'estuaire. A l'inverse, les concentrations relatives de 7 analytes sont constantes ou quasi-constantes, indiquant un comportement persistant de ces molécules.

Chapitre 4.4 : Approche *in-vitro* du potentiel de dégradation du bouchon vaseux

4.1	Observations préliminaires	355
4.1.1	Evolution des descripteurs physico-chimiques	355
4.1.2	Molécules détectées	357
4.1.3	Incidence de la stérilisation au chlorure mercurique.....	358
4.1.4	Observations concernant la carbamazépine	359
4.2	Evolution des concentrations totales.....	360
4.2.1	Influence de la charge particulaire.....	360
4.2.2	Influence du type d'effluent.....	364
4.2.3	Influence du taux de dilution	364
4.2.4	Etude des temps de demi-vie et élaboration d'une échelle de conservativité.....	365
4.2.5	Synthèse sur la signification environnementale	370
4.3	Partition dissous-particulaire	371
4.3.1	Evolution des concentrations au cours du temps	371
4.3.2	Evolution des concentrations selon les conditions expérimentales	372
4.3.3	Evolution des proportions d'analyte fixé aux particules.....	375
4.4	Approche complémentaire par analyse non ciblée	377
4.5	Conclusions.....	380

4 Approche *in-vitro* du potentiel de dégradation du bouchon vaseux

Au travers d'expériences d'incubation de mélanges d'eaux de Garonne et d'effluents urbains, cette partie s'attache à décrire les phénomènes responsables de l'évolution des concentrations en médicaments dans l'hydrosystème de la Gironde. Les tendances observées dans les diverses conditions expérimentales, assimilées à des simplifications du réacteur naturel qu'est la Gironde, permettent de renseigner pour chaque analyte la part des transformations biotiques et abiotiques, adsorption incluse, gouvernant son devenir après rejet.

4.1 Observations préliminaires

4.1.1 Evolution des descripteurs physico-chimiques

Les conditions expérimentales sont rappelées dans le Tableau 92.

Tableau 92. Détail des conditions expérimentales. * natifs : ibuprofène, abacavir, acide fénofibrique, paracétamol, naproxène, sotalol, carbamazépine

Condition (aquarium)	Eau de STEP	Eau de Garonne	Remarques :
1 : témoin sortie SANS bouchon vaseux	Sortie 12,5 L	Garonne Bègles surnageant après décantation 12,5 L	
2 : sortie AVEC bouchon vaseux	Sortie 12,5 L	Garonne Bègles 12,5 L	Obj : MES 1 g.L ⁻¹ dans aqua final
3 : sortie AVEC bouchon vaseux concentré	Sortie 12,5 L	Garonne Bègles concentré 12,5 L	Obj : MES 5 g.L ⁻¹ dans aqua final
4 : impact eau entrée	Entrée 12,5 L	Garonne Bègles 12,5 L	
5 : témoin abiotique	Sortie 12,5 L	Garonne Bègles 12,5 L	+ chlorure mercurique 100 mg.L ⁻¹
6 : dilution caractéristique d'un rejet dans l'environnement	Sortie 1/10 2,5 L	Garonne Bègles 9/10 22,5 L	+ dopage natifs* à 500 ng.L ⁻¹

La conductivité, la salinité, le pH, le taux de saturation en oxygène dissous et la température de l'eau ont été mesurés dans les aquariums, à l'exception de l'aquarium 5, empoisonné au chlorure mercurique, ce composé pouvant détériorer les sondes (Figure 183).

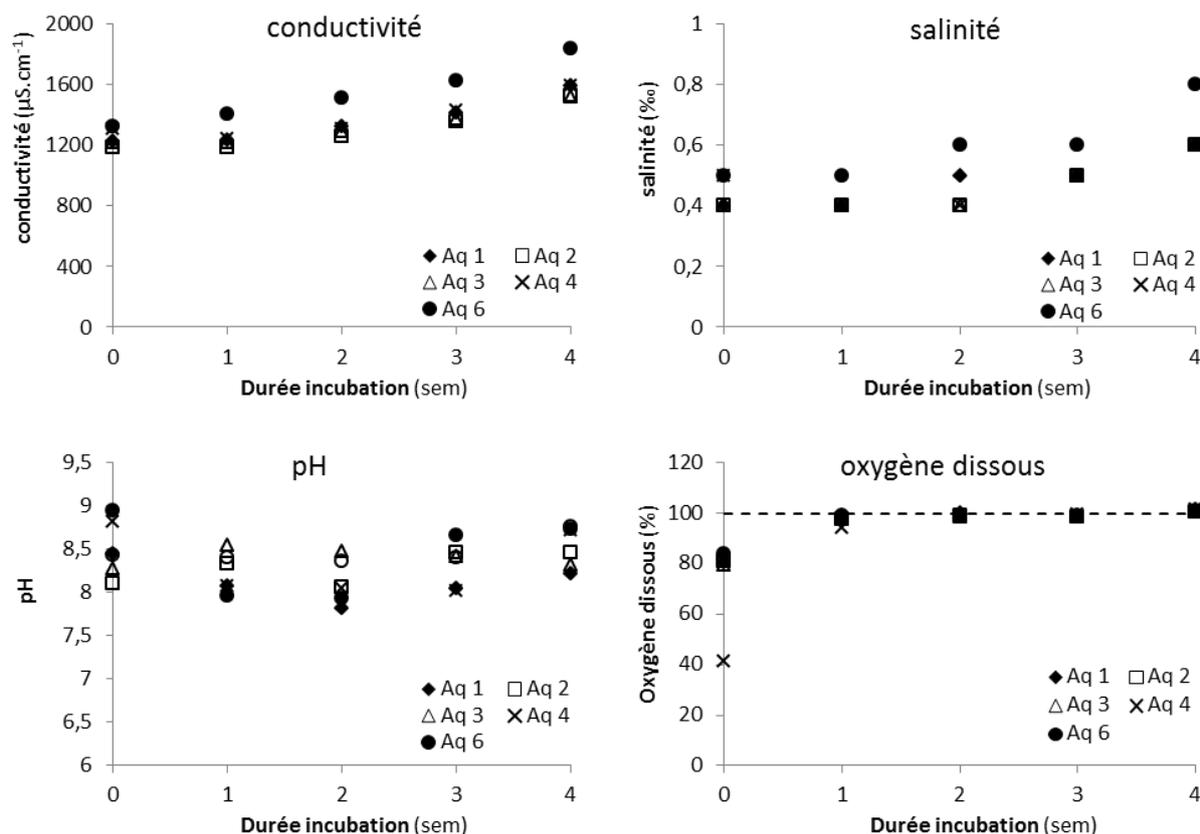


Figure 183. Evolution des paramètres physico-chimiques accompagnateurs au cours des incubations.

La conductivité de départ est proche de $1200 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ dans les conditions 1, 2 et 3 ; elle est supérieure d'environ $100 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ dans les conditions 4 et 6, en raison de la conductivité supérieure de l'effluent d'entrée en 4 et de la plus forte proportion d'eau salée de Garonne en 6. Une hausse progressive de la conductivité (et, par conséquent, de la salinité) est observée dans toutes les conditions. Ces observations seront discutées dans la section 4.1.4 de ce chapitre. Le pH varie entre 7,8 et 8,9 toutes conditions confondues, les valeurs maximales étant mesurées dans les conditions 4 et 6 au T_0 . Le taux de saturation en oxygène est proche de 100 % à partir de la semaine 1, confirmant les conditions aérobies créées par bullage d'air. Les eaux avant mélange n'étaient pas soumises à bullage, ce qui explique les plus faibles valeurs d'oxygène du T_0 . La température de l'eau est considérée comme stable à l'échelle du mois d'expérience, elle a varié de 19 à 22 °C dans tous les aquariums, celle de la pièce ayant pris les valeurs minimales et maximales de 18 et 22,5 °C.

Les concentrations en MES mesurées au T_0 sont données dans le Tableau 93. Elles sont conformes aux valeurs ciblées dans le plan expérimental. L'évolution des concentrations en MES au cours de l'expérience est donnée Figure 184.

 Tableau 93. Concentrations en MES mesurées au T_0 dans les différentes conditions expérimentales.

	Aq1	Aq2	Aq3	Aq4	Aq5	Aq6
MES ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,082	0,68	3,9	1,2	0,93	1,5

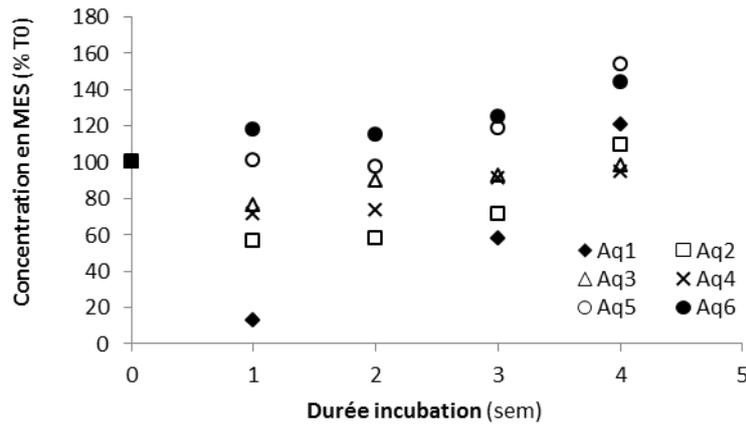


Figure 184. Evolution des concentrations en MES dans les différentes conditions expérimentales. Les concentrations sont exprimées en pourcentage du T_0 .

Dans les aquariums 1 à 4, les concentrations en MES décroissent entre le T_0 et le premier prélèvement, en raison d'une sédimentation visible dans le fond des aquariums. Pour l'ensemble des aquariums, les concentrations en MES augmentent à partir de la 2^{ème} semaine, hausse partiellement attribuée à l'amélioration du brassage consécutive à la diminution du volume total à mélanger chaque semaine (2 L prélevés à chaque temps).

4.1.2 Molécules détectées

Les concentrations considérées dans cette section sont les concentrations totales (dissous + particulaire).

Les molécules dont les concentrations au départ des incubations sont supérieures à la LQ pondérée sont présentées dans le Tableau 94. Sur les 53 analytes, 7 ne sont pas détectés. Compte tenu de la dilution à 50 % de l'effluent de sortie de STEP, les taux de détection sont approximativement ceux mesurés en STEP (cf. chapitre 4.1, section 1.2.1).

Tableau 94. Molécules détectées dans les T_0 au-delà de leur LQ pondérée (méthodologie de calcul des rendements d'élimination, cf. chapitre 4.1, section 1.3.1).

Analyte	Aq 1	Aq 2	Aq 3	Aq 4	Aq 5	Aq 6	Analyte	Aq 1	Aq 2	Aq 3	Aq 4	Aq 5	Aq 6
abacavir	X	X	X	X		X	pravastatine	X	X	X	X	X	X
indinavir							atorvastatine		X		X		
lamivudine	X	X	X	X	X	X	atenolol	X	X	X	X	X	X
nelfinavir							bisoprolol	X	X	X	X	X	X
névirapine	X	X	X	X	X		metoprolol	X	X	X	X	X	X
ritonavir	X	X	X	X	X	X	propranolol	X	X	X	X	X	X
saquinavir			X	X	X		sotalol	X	X	X	X	X	X
zidovudine	X	X	X	X	X		timolol	X	X	X	X	X	
bromazépam	X	X	X	X			acébutolol	X	X	X	X		X
nordiazépam	X	X	X	X	X	X	imipramine						
alprazolam	X	X					doxépine						
diazépam				X	X	X	amitriptyline	X	X	X	X	X	X
oxazépam	X	X	X	X	X	X	fluoxétine	X	X	X	X	X	X

Analyte	Aq 1	Aq 2	Aq 3	Aq 4	Aq 5	Aq 6	Analyte	Aq 1	Aq 2	Aq 3	Aq 4	Aq 5	Aq 6
lorazépam	X	X	X	X	X		primidone	X	X	X	X	X	X
clonazepam							carbamazépine	X	X	X	X	X	X
méprobamate	X	X	X	X	X	X	cétirizine	X	X	X	X	X	X
kétoprofène	X	X	X	X	X	X	ranitidine	X	X	X	X		
naproxène	X	X	X	X	X	X	clenbuterol						
diclofénac	X	X	X	X	X	X	caféine	X	X	X	X	X	X
ibuprofène	X	X	X	X	X	X	théophylline	X	X	X	X	X	X
hydroxy- ibuprofène	X	X	X	X	X	X	sildénafil						
paracétamol				X		X	losartan	X	X	X	X	X	X
gemfibrozil	X	X	X	X	X	X	salbutamol	X	X	X			
bézafrate	X	X	X	X	X	X	clopidogrel	X	X	X	X	X	X
ac. 4-chlorobenz acide	X	X	X		X		terbutaline						
fénofibrique	X	X	X	X	X	X	disopyramide	X	X	X	X	X	X
acide clofibrique													

4.1.3 Incidence de la stérilisation au chlorure mercurique

Afin d'évaluer l'interférence potentielle du chlorure mercurique vis-à-vis des analytes, les concentrations du T₀ dans l'aquarium 5 empoisonné sont comparées à la moyenne des concentrations des aquariums 1 à 3, l'application de la même proportion de mélange effluent de STEP-eau de Garonne les rendant comparables (Figure 185).

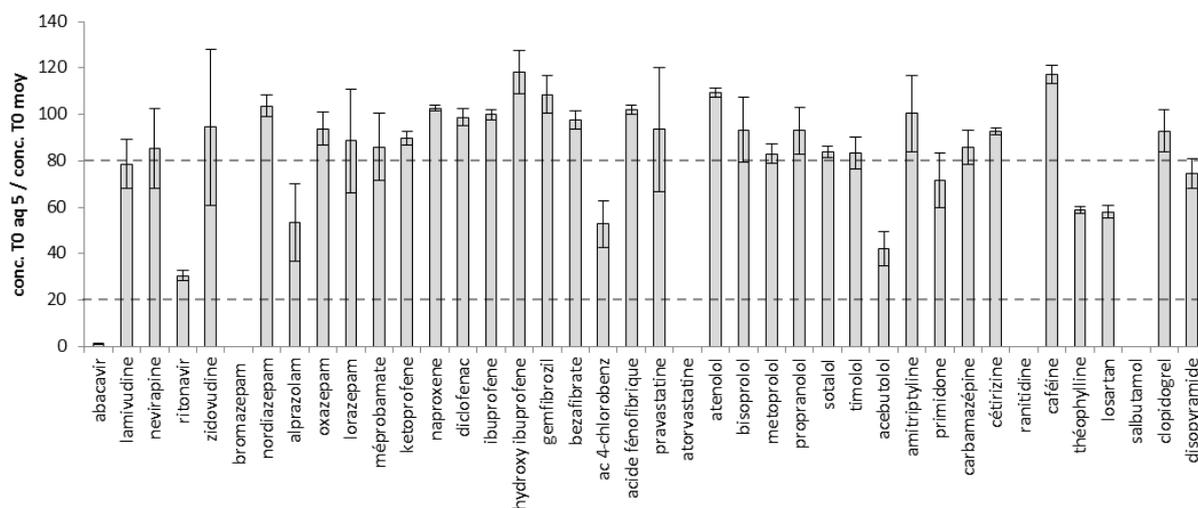


Figure 185. Comparaison de la concentration initiale de l'aquarium stérilisé (aq 5) à la concentration initiale moyenne des aquariums 1, 2 et 3. Les traits en pointillés indiquent les seuils à 80 et 20 %.

Les analytes pour lesquels moins de 80 % de la concentration relevée dans les aquariums 1 à 3 est mesurée dans le témoin abiotique sont considérés comme affectés, ceux pour lesquels cette valeur descend sous 20 % seront exclus des comparaisons au témoin abiotique (Tableau 95).

Tableau 95. Analytes affectés par l'ajout de chlorure mercurique aux seuils de 80 et 20 %.

Seuil de 80 %	Seuil de 20 %
ritonavir, alprazolam, acide 4-chlorobenzoïque, acébutolol, primidone, théophylline, losartan, disopyramide	abacavir, bromazépam, atorvastatine, ranitidine, salbutamol

La réponse satisfaisante des étalons internes correspondant (abacavir d4, bromazépam d4, atorvastatine d5 et primidone d5) infirme l'hypothèse d'interférences du chlorure mercurique sur le protocole analytique. La stérilisation au chlorure mercurique altère partiellement la composition en micropolluants organiques dissous de l'eau puisque 13 molécules ont une concentration inférieure à la concentration théorique après ajout du chlorure mercurique. Cette altération est rapide puisqu'on ne détecte pas ces analytes dès le T_0 , pourtant échantillonné quelques minutes après empoisonnement. Dans la littérature, cette technique de stérilisation a été rapportée pour peu altérer la composition organique des matrices stérilisées (Fitzhugh *et al.*, 2003 ; Wolf *et al.*, 1989) même si Wang *et al.* (2011) ont observé de 2 à 36 % de pertes en HAP après stérilisation de boues au chlorure mercurique.

4.1.4 Observations concernant la carbamazépine

L'évolution des concentrations en carbamazépine est présentée Figure 186. Pour toutes les conditions expérimentales, une augmentation progressive des concentrations jusqu'à approximativement 130 % de la concentration initiale est observée, équivalente aux augmentations de la conductivité et des MES précédemment constatées. Ces paramètres étant conservatifs, cette hausse est attribuée à l'évaporation de l'eau (les aquariums ne comportent pas de couvercle). La perte est estimée à $0,3 \text{ L.j}^{-1}$.

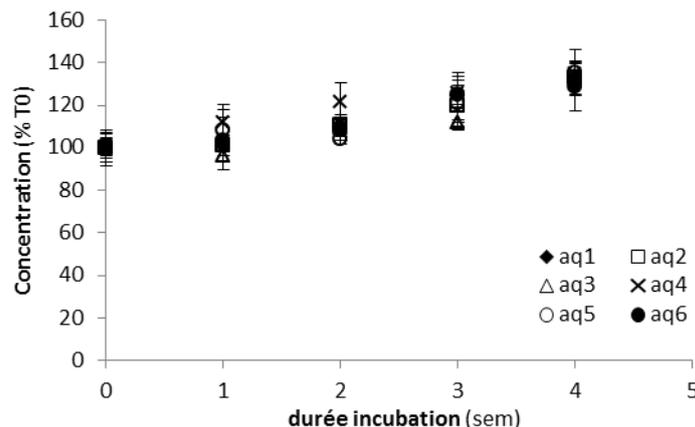


Figure 186. Evolution des concentrations en carbamazépine dans les 6 conditions expérimentales.

Abstraction faite de cette augmentation de concentration par évaporation, la carbamazépine n'est pas dégradée quelles que soient les conditions expérimentales. Afin de s'affranchir de ce phénomène

d'évaporation, il est décidé par la suite de normaliser les concentrations de chaque analyte par celles de la carbamazépine à chaque point cinétique.

4.2 Evolution des concentrations totales

Dans cette partie, les concentrations totales correspondant à la somme des concentrations mesurées en phases dissoute et particulaires sont considérées. Les concentrations sont également corrigées par l'évaporation.

4.2.1 Influence de la charge particulaire

a) Mise en évidence de dégradations biotique et abiotique

En classant les analytes détectés dans les conditions expérimentales 1, 2 et 3 (eau de sortie sans et avec bouchon vaseux, à deux concentrations) selon leur comportement observé pendant l'incubation (Tableau 96), 4 comportements peuvent être distingués :

- a. type méprobamate : Le témoin abiotique ainsi que les 3 conditions de concentrations en MES ont des concentrations stables sur la durée des incubations (> 80 % du T_0).
- b. type naproxène : Les concentrations du témoin abiotique sont stables (> 80 % du T_0), une décroissance de plus en plus rapide est observée à concentrations en MES croissantes.
- c. type aténolol : Les concentrations du témoin abiotique sont décroissantes, une décroissance de plus en plus rapide est observée à concentrations en MES croissantes.
- d. type ritonavir : Les concentrations du témoin abiotique et des 3 conditions de concentrations en MES décroissent selon une même cinétique.

Tableau 96. Classement des analytes détectés dans les conditions 1, 2 et 3 en fonction de leur comportement.
 * : diclofénac et pravastatine affichent une chute des concentrations à 1 semaine, détaillée ci-après. ** : analytes exclus des comparaisons au témoin abiotique. L'abscisse des graphes est le temps d'incubation en semaines et l'ordonnée la concentration en analyte normalisée par celle de la carbamazépine en pourcentage du T0.

	Comportement-type	Analytes
a.	<p>méprobamate</p> <p>◆ aq1 □ aq2 △ aq3 ○ aq5</p>	bromazépam**, nordiazépam, alprazolam, lorazépam, méprobamate, primidone, carbamazépine
b.	<p>naproxène</p> <p>◆ aq1 □ aq2 △ aq3 ○ aq5</p>	kétoprofène, naproxène, diclofénac*, ibuprofène, hydroxy-ibuprofène, gemfibrozil, bézafibrate, acide 4-chlorobenzoïque, acide fénofibrique, pravastatine*, métoprolol, sotalol, cétirizine, losartan, disopyramide
c.	<p>aténolol</p> <p>◆ aq1 □ aq2 △ aq3 ○ aq5</p>	lamivudine, zidovudine, aténolol, bisoprolol, propranolol, caféine, théophylline abacavir**, acébutolol**, ranitidine**
d.	<p>ritonavir</p> <p>◆ aq1 □ aq2 △ aq3 ○ aq5</p>	ritonavir, oxazépam, amitriptyline, fluoxétine, clopidogrel

Les molécules de type méprobamate, qui appartiennent toutes à la famille des psycholeptiques au sens large, sont essentiellement des benzodiazépines et sont conservatives dans les conditions de l'expérience. Dans le cas des molécules de type naproxène, le témoin abiotique stable atteste d'une dégradation biotique majoritaire. L'accélération de la cinétique pour des concentrations en MES croissante est attribuée à l'apport des bactéries portées par les particules, Plummer *et al.* (1987) ayant montré que l'essentiel de l'activité bactérienne dans le bouchon vaseux de l'estuaire de la

rivière Tamar, Angleterre, était dû aux bactéries portées par les particules en suspension. En ce qui concerne les molécules de type aténolol, des concentrations supérieures sont mesurées dans le témoin abiotique, associées à une accélération des cinétiques pour une concentration en MES croissante, traduisant une biodégradation. Celle-ci n'est pas l'unique voie de dégradation puisque les concentrations dans le témoin abiotique décroissent. Enfin, dans le cas des molécules de type ritonavir, la biodégradation n'est pas la dégradation majoritaire puisque le témoin abiotique décroît avec une cinétique équivalente aux conditions biotiques. Il est intéressant de noter que les molécules au comportement de type ritonavir ont déjà été mentionnées pour leur hydrophobie. Bien que classé dans cette catégorie, l'oxazépam est très stable et affiche une décroissance très lente, avec des temps de demi-vie supérieurs à 60 j (cf. section 4.2.4 de ce chapitre). La stabilité de l'oxazépam a déjà été mise en évidence lors du traitement en STEP (González Alonso *et al.*, 2010 ; Yuan *et al.*, 2013) ainsi que dans les eaux de surface (Hass *et al.*, 2012).

Les expériences de dégradation de naproxène et gemfibrozil conduites par Grenni *et al.* (2013) ont mis en évidence le rôle des communautés bactériennes des eaux du Tibre, Italie, dans la dégradation de ces molécules. Le dosage à forte concentration ($100 \mu\text{g.L}^{-1}$), non représentatif d'une contamination usuelle, a entraîné le développement préférentiel d'un type de bactéries spécifiques, *Alpha- et Gamma-Proteobacteria*, impliquées dans la dégradation de naproxène et gemfibrozil selon les auteurs. La comparaison des phénomènes de biodégradation et de photodégradation conduite par Yamamoto *et al.* (2009) sur huit médicaments pendant 72 h dans des eaux de rivière a montré une prédominance de la photodégradation sur la biodégradation. Cependant, après le retrait d'une partie du matériel particulaire par une filtration des eaux à $3 \mu\text{m}$, la teneur en MES, vectrices des bactéries (Plummer *et al.*, 1987), n'est pas précisée. En milieu estuarien, les expériences d'incubation d'eaux de la Jamaica Bay (New York, Etats-Unis) de Benotti et Brownawell (2009) ont permis d'attribuer la dégradation observée sur 13 des 19 médicaments étudiés à des phénomènes biotiques par comparaison à un témoin autoclavé. L'apparition de $^{14}\text{CO}_2$, généré par minéralisation de ^{14}C -caféine, a par ailleurs confirmé l'aptitude des bactéries à utiliser ou métaboliser la caféine. Les auteurs ont également observé que les incubations d'eaux plus eutrophisées, prélevées plus à l'intérieur de la baie, donnaient des cinétiques de dégradation plus rapides.

b) Cas particulier du diclofénac et de la pravastatine

La Figure 187 présente les cas de diclofénac et pravastatine. A la semaine 1, une chute des concentrations est observée dans les 4 conditions abiotique, sans bouchon vaseux et à deux concentrations en bouchon vaseux, non associée à la tendance générale observée sur les 4 semaines. L'examen des paramètres physico-chimiques accompagnateurs, ne permet pas d'expliquer ces résultats. Ce phénomène affecte moins le témoin abiotique, pourtant à concentration en MES équivalente à la condition 2.

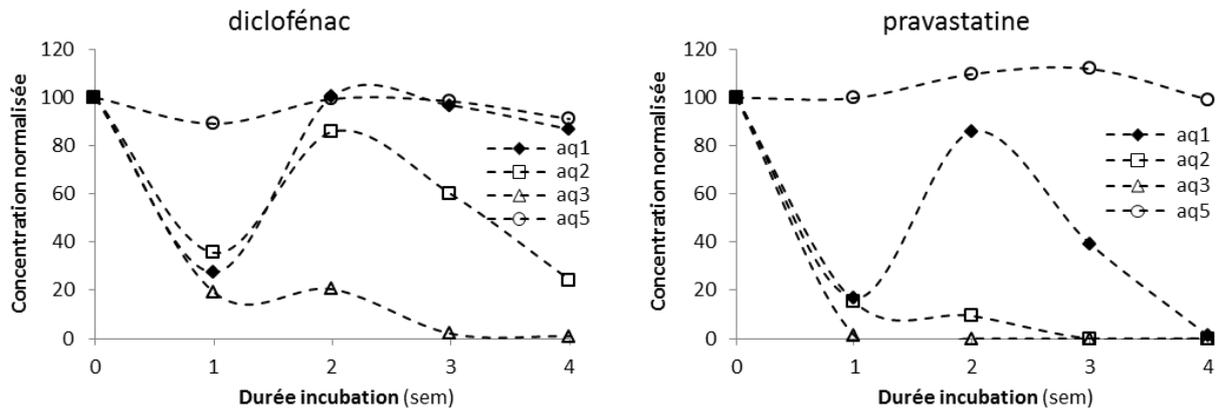


Figure 187. Evolution des concentrations totales (dissous + particulaire) en diclofénac et en pravastatine lors des incubations.

c) Allure de la cinétique

Lorsqu'il y a dégradation, les concentrations décroissent lentement lors de la 1^{ère} semaine (temps de latence) puis plus rapidement par la suite (exemple du bézafibrate, Figure 188), ne suivant pas une cinétique de réaction du premier ordre.

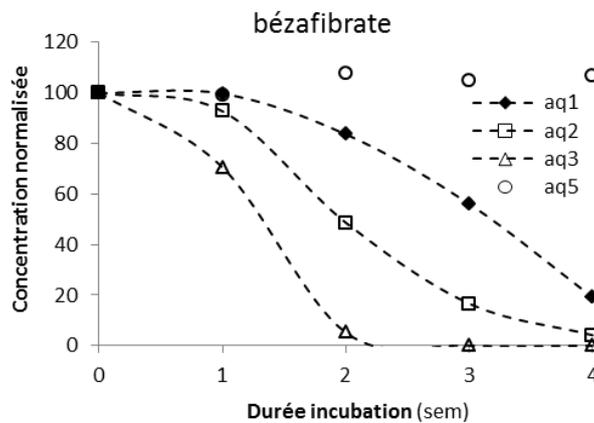


Figure 188. Evolution des concentrations en bézafibrate au cours des incubations.

Ce temps de latence a déjà été observé dans le cas de dégradations par boues activées, sur la matière organique dissoute (Galvez *et al.*, 1996) ou sur l'ibuprofène et le kétoprofène (Almeida *et al.*, 2013) ainsi que dans le cas de la dégradation de bisphénol A, estradiol et éthinylestadiol en environnement marin (Ying et Kookana, 2003). Chong (2009) attribue ce retard à l'acclimatation et au développement des populations bactériennes et propose un modèle basé sur une fonction sigmoïde pour décrire les cinétiques observées.

4.2.2 Influence du type d'effluent

La comparaison des cinétiques observées dans les aquariums 2 et 4 (effluents de sortie et d'entrée dilués à moitié par l'eau de la Garonne) tient compte à la fois de l'effet du type d'effluent et de la concentration ainsi que de la nature des MES. Pour les molécules à cinétique très rapide, non détectées à partir de la 1^{ère} semaine, l'échantillonnage hebdomadaire ne permet pas ce type de comparaison. Pour les analytes à cinétique intermédiaire, une décroissance légèrement plus rapide est observée dans le cas d'eaux d'entrée de STEP, le temps de demi-vie étant généralement raccourci de quelques jours, 2,5 j dans le cas du naproxène, Figure 189.a. L'analyse des temps de demi-vie est abordée dans le détail en section 4.2.4. Le temps de latence initial n'est pas modifié de façon significative selon le type d'effluent utilisé. Dans le seul cas de l'acide fénofibrique (Figure 189.b), des concentrations supérieures ont été observées avec de l'effluent d'entrée de STEP. La présence éventuelle de fénofibrate, composé parent de l'acide fénofibrique mais n'appartenant pas au protocole analytique (*cf.* chapitre 1, section 4.2.3), serait à vérifier, sa présence en concentrations supérieures en entrée de STEP expliquerait cette observation. Cette transformation hors du métabolisme humain n'a pas fait l'objet d'études dans la littérature.

Il ressort de cette comparaison que le type d'effluent utilisé n'a pas une incidence majeure sur les cinétiques de dégradation des analytes.

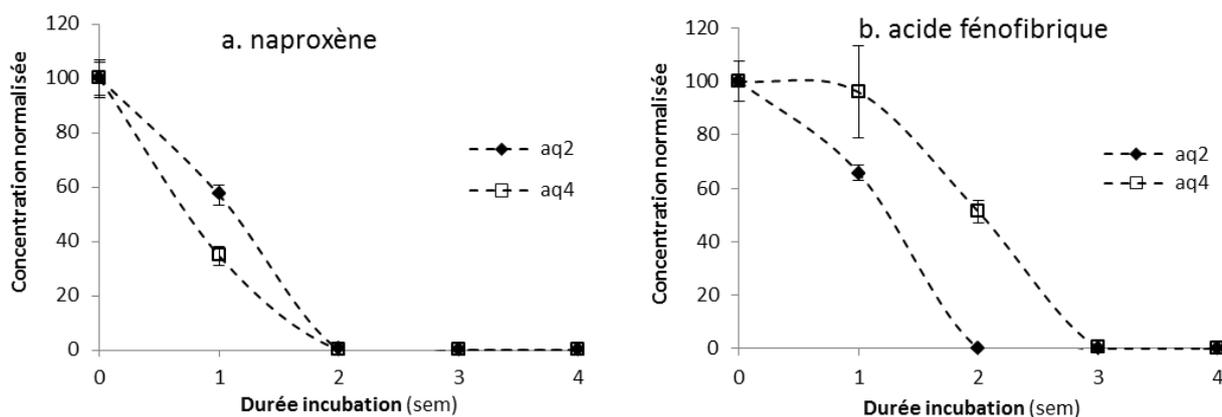


Figure 189. Comparaison du type d'effluent sur les cinétiques de dégradation : aq 2, effluent de sortie de STEP, aq 4, effluent d'entrée. n=3.

4.2.3 Influence du taux de dilution

Les eaux de sortie de STEP mélangées à l'eau de Garonne en proportions variables d'effluent sont comparées dans les aquariums 2 (dilution 50:50), 3 (dilution 50:50) et 6 (dilution 10:90), les concentrations en MES des deux premiers encadrant celles de l'aquarium 6. Comme précédemment, l'étude se focalise sur les analytes à cinétique intermédiaire. Pour l'ensemble de ces composés, à l'image de sotalol et cétirizine (Figure 190), les cinétiques observées dans l'aquarium 6 sont intermédiaires entre les aquariums 2 et 3, à taux de dilution des effluents inférieur. Il en découle que le facteur déterminant la cinétique est principalement la concentration en MES.

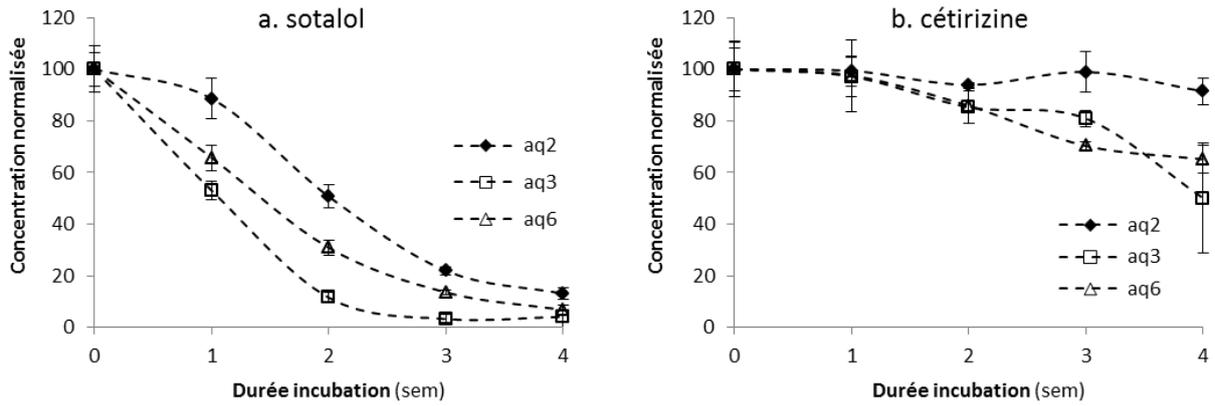


Figure 190. Comparaison du taux de dilution des effluents sur les cinétiques de dégradation : aq 2 et 3, dilution 50 %, aq 6, dilution 90 %. n=3.

Ainsi, cette condition 6, proche des niveaux de dilution rencontrés au voisinage des sources de rejets, donne des résultats conformes à ceux obtenus dans les autres conditions de ce test de dégradation, pour des taux de dilution de moitié. Les dégradations observées dans les autres conditions résultent des capacités accélératrices de dégradation des eaux de Garonne riches en particules et non de la capacité propre de l'effluent à se dégrader.

4.2.4 Etude des temps de demi-vie et élaboration d'une échelle de conservativité

Afin de qualifier de façon relative les analytes dans les diverses conditions d'incubation, le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) associé au couple analyte-condition expérimentale est calculé. La cinétique n'étant pas du premier ordre, le temps de demi-vie ne peut être calculé à partir d'un modèle exponentiel simple, comme dans les études de Benotti et Brownawell (2009), Yamamoto *et al.* (2009) et Ying et Kookana (2003). La méthodologie de calcul est alors la suivante :

- Si la concentration normalisée est inférieure à 50 % sur les 4 semaines d'incubation (Figure 191.a), la cinétique est approximée entre les 2 points encadrant 50 % par une fonction affine.
- Si la concentration normalisée reste supérieure à 50 % sur la durée totale des incubations (Figure 191.b), la tendance donnée par les points 3 et 4 semaines est extrapolée par une droite affine, $t_{1/2}$ étant son intersection avec la droite $y = 50\%$.

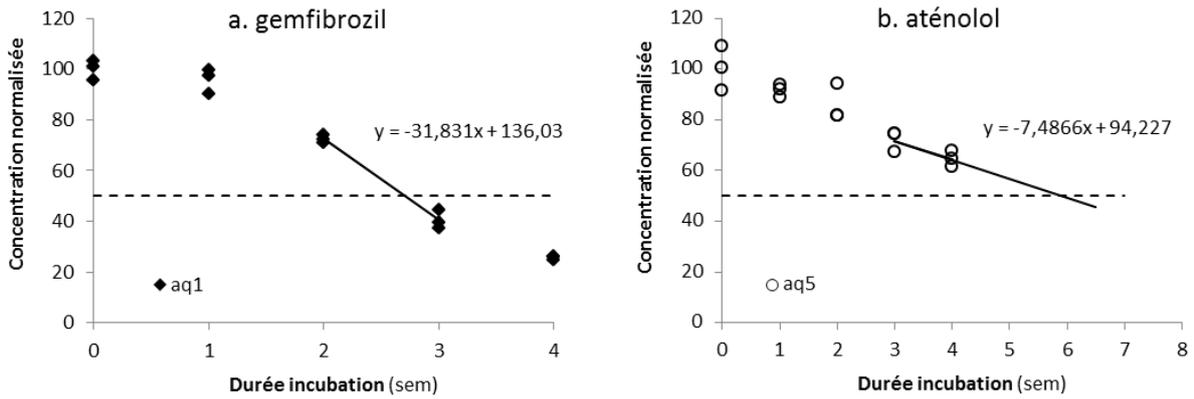


Figure 191. Calcul du temps de demi-vie dans les deux cas de figure rencontrés.

Les coefficients de ces droites affines permettent d'estimer le temps de demi-vie ainsi que l'incertitude associée selon les formules donnée ci-après, basées sur les méthodes mathématiques de propagation des incertitudes.

Si a et b sont respectivement la pente et l'ordonnée à l'origine de la droite affine :

$$t_{1/2} = \frac{50}{a} - \frac{b}{a}$$

et :

$$\Delta t_{1/2} = \sqrt{\left(\Delta\left(\frac{50}{a}\right)\right)^2 + \left(\Delta\left(\frac{b}{a}\right)\right)^2}$$

or :

$$\Delta\left(\frac{50}{a}\right) = \frac{\Delta a}{a^2}$$

et :

$$\Delta\left(\frac{b}{a}\right) = \frac{b}{a} \times \sqrt{\left(\frac{\Delta b}{b}\right)^2 + \left(\frac{\Delta a}{a}\right)^2}$$

il vient alors :

$$\Delta t_{1/2} = \sqrt{\left(\frac{\Delta a}{a^2}\right)^2 + \left(\frac{b}{a} \times \sqrt{\left(\frac{\Delta b}{b}\right)^2 + \left(\frac{\Delta a}{a}\right)^2}\right)^2}$$

Les incertitudes Δa et Δb sont prises comme les écarts-types sur la pente et l'ordonnée à l'origine donnés par la régression linéaire de la droite affine.

Enfin, lorsqu'un analyte présente des concentrations normalisées supérieures à 80 %, il sera considéré comme stable et ne fera pas l'objet d'un calcul de temps de demi-vie.

Les temps de demi-vie, calculés selon cette méthode, sont donnés dans le Tableau 97.

Tableau 97. Synthèse des temps de demi-vie calculés dans les 6 conditions des incubations. ND : $t_{1/2}$ non déterminable puisque l'analyte n'est pas détecté en-deçà de la limite de quantification pondérée du facteur de robustesse f .

Analyte	Temps de demi-vie (j)					
	Aq 1	Aq 2	Aq 3	Aq 4	Aq 5	Aq 6
abacavir	3,6 ± 0,2	3,7 ± 0,5	3,5 ± 0,5	3,6 ± 0,2	ND	3,5 ± 0,4
indinavir	ND	ND	ND	ND	ND	ND
lamivudine	3,5 ± 0,1	4,8 ± 0,5	3,5 ± 0,5	5,2 ± 0,7	stable	3,5 ± 0,4
nelfinavir	ND	ND	ND	ND	ND	ND
névirapine	stable	stable	30 ± 22	stable	stable	stable
ritonavir	3,8 ± 0,4	3,8 ± 1	3,7 ± 1,1	3,9 ± 0,4	5,7 ± 0,9	3,7 ± 0,5
saquinavir	ND	ND	3,5 ± 0,2	4,1 ± 0,5	5 ± 0,8	ND
zidovudine	49 ± 223	24 ± 10	8,2 ± 1,9	14 ± 5	46 ± 137	ND
bromazépam	stable	stable	stable	stable	stable	stable
nordiazépam	stable	stable	stable	stable	stable	stable
alprazolam	stable	stable	ND	ND	ND	ND
diazépam	ND	ND	ND	stable	stable	stable
oxazépam	96 ± 38	97 ± 46	58 ± 23	165 ± 228	65 ± 30	72 ± 36
lorazépam	stable	stable	stable	stable	stable	stable
clonazépam	ND	ND	ND	ND	ND	ND
méprobamate	stable	stable	stable	stable	stable	stable
kétoprofène	8,1 ± 0,4	6,1 ± 0,9	6,1 ± 0,5	9,4 ± 1,4	stable	6,8 ± 2,6
naproxène	16 ± 1	7,9 ± 0,7	3,5 ± 0,2	5,4 ± 0,7	stable	3,6 ± 0,4
diclofénac	stable	23 ± 2	8,9 ± 0,3	14,6 ± 4,5	stable	11,2 ± 2,2
ibuprofène	6,5 ± 1	4,3 ± 0,4	3,5 ± 0,5	3,5 ± 0,3	stable	3,6 ± 0,2
hydroxy-ibuprofène	9,5 ± 0,3	6,2 ± 0,5	4,9 ± 0,4	3,5 ± 0,2	stable	5,1 ± 1,4
paracétamol	ND	ND	ND	3,5 ± 0,2	ND	3,5 ± 0,6
gemfibrozil	19 ± 3	13 ± 2	10 ± 1	18 ± 3	stable	11 ± 4
bézafrate	22 ± 3	14 ± 2	9,2 ± 0,8	8,7 ± 1,3	stable	11 ± 2
ac. 4-chlorobenzoïque	17 ± 13	9,8 ± 0,9	3,5 ± 0,3	ND	stable	ND
acide fénofibrique	10 ± 0	8,7 ± 0,4	5 ± 0,6	14 ± 1	stable	5,5 ± 0,8
acide clofibrique	ND	ND	ND	ND	ND	ND
pravastatine	19 ± 4	7,7 ± 1,4	3,6 ± 0,3	3,5 ± 0,3	stable	3,5 ± 0,1
atorvastatine	ND	3,5 ± 2,5	ND	3,6 ± 3	ND	ND
aténolol	5,6 ± 1	7,2 ± 1,3	3,7 ± 0,6	5 ± 0,7	41 ± 37	3,8 ± 0,8
bisoprolol	13 ± 3	6,7 ± 1,2	4,9 ± 0,6	4,7 ± 0,5	47 ± 57	5,5 ± 1,3
métoprolol	24 ± 47	7,6 ± 1,6	5,2 ± 0,4	5,5 ± 0,9	stable	7,4 ± 0,2
propranolol	6,9 ± 1,2	7,6 ± 1,6	4,9 ± 0,6	5,2 ± 0,5	56 ± 139	6,2 ± 1,3
sotalol	palier à 60%	14,2 ± 3,1	4,9 ± 0,6	12,9 ± 9,6	stable	10 ± 2
timolol	stable	30 ± 22	15 ± 13	43 ± 45	stable	ND
acébutolol	stable	18 ± 6	11 ± 3	19 ± 7	ND	26 ± 22
imipramine	ND	ND	ND	ND	ND	ND
doxépine	ND	ND	ND	ND	ND	ND
amitriptyline	4 ± 0,9	6,3 ± 2,1	10,4 ± 2,6	palier à 55%	3,9 ± 0,6	ND
fluoxétine	3,6 ± 0,4	6,3 ± 1	stable	8,1 ± 4,8	5,7 ± 1	ND
primidone	stable	stable	stable	stable	stable	stable
carbamazépine	stable	stable	stable	stable	stable	stable
cétirizine	stable	stable	30 ± 18	stable	stable	37,1 ± 14,6
ranitidine	stable	12 ± 14	8,4 ± 4,9	13 ± 5	ND	ND
clenbuterol	ND	ND	ND	ND	ND	ND
caféine	4,5 ± 0,7	3,8 ± 1,5	5 ± 0,7	3,5 ± 0,2	39 ± 22	3,9 ± 0,9
théophylline	5,6 ± 1,1	5,2 ± 3,8	3,6 ± 2	3,6 ± 0,1	31 ± 24	4 ± 0,6
sildénafil	ND	ND	ND	ND	ND	ND
losartan	28 ± 7	17 ± 2	8,7 ± 0,8	19 ± 5	stable	10 ± 2
salbutamol	33 ± 35	8,9 ± 2,2	8,5 ± 3,5	ND	ND	ND
clopidogrel	4,5 ± 1,2	5,5 ± 1,3	4,9 ± 1,2	4,1 ± 0,4	4,5 ± 1,2	4 ± 1
terbutaline	ND	ND	ND	ND	ND	ND
disopyramide	stable	stable	41 ± 167	stable	stable	stable

Les analytes à temps de demi-vie égaux à 3,5 j sont ceux non détectés dès la première semaine. La cinétique est rapide et le $t_{1/2}$ peut être encore inférieur, sa détermination précise nécessitant un pas de temps de prélèvement faible en début d'incubation.

Pour une condition biotique donnée, jusque 14 analytes (/40) sont considérés comme stable. Les persistances relatives des molécules sont globalement en accord avec celles rapportées dans la littérature : naproxène < gemfibrozil (Grenni *et al.*, 2013), paracétamol << carbamazépine (Yamamoto *et al.*, 2009), paracétamol < caféine < kétoprofène < salbutamol \approx ranitidine < carbamazépine (Benotti et Brownawell, 2009).

La Figure 192 donne le temps de demi-vie en fonction de la charge particulaire initiale pour 6 des 13 analytes présentant à la fois des concentrations décroissantes dans au moins 3 conditions expérimentales et au minimum 2 conditions aux temps de demi-vie supérieurs à 7 j.

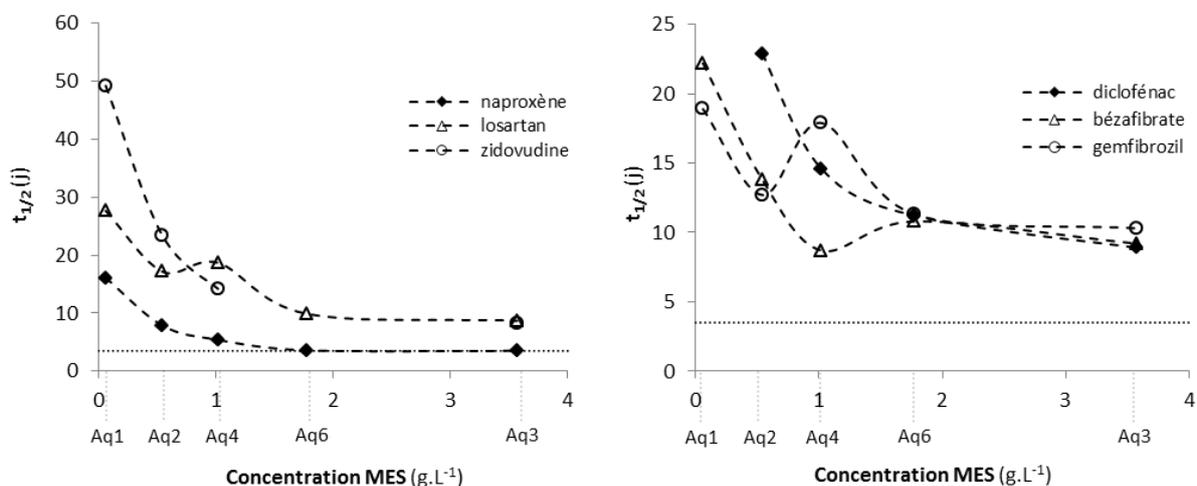


Figure 192. Relation entre temps de demi-vie et charge particulaire pour 6 analytes. On note que zidovudine n'est pas détecté dans l'aquarium 6 et que diclofénac n'est pas dégradé dans l'aquarium 1. La valeur minimale de 3,5 j est matérialisée par une ligne en pointillés.

La relation est de type exponentielle décroissante, les cinétiques de dégradation sont donc plus affectées par les variations de concentration en MES aux faibles charges particulaires qu'aux fortes charges particulaires. Pour la plupart de ces 13 analytes, des cinétiques similaires sont observées entre l'aquarium à taux de dilution 90:10 (aq 6) et l'aquarium contenant la plus forte concentration en MES (aq 3), ce dernier étant pourtant 2 fois plus concentré en particules. Dans ces conditions expérimentales, l'apport de particules supplémentaires, donc de bactéries, ne diminue pas le temps de demi-vie en-deçà d'un seuil propre à chaque molécule. Cette limitation pourrait être attribuée à la cinétique de la diffusion de la phase dissoute vers la bactérie mais nécessiterait des expériences complémentaires. La cinétique est modifiée dans le cas d'effluent d'entrée de STEP pour les losartan, gemfibrozil et bézafibrate, engendrant un point légèrement hors tendance.

Il est possible d'établir une échelle de conservativité relative des molécules à partir des valeurs de temps de demi-vie. Pour cela, une note de 0 à 100 est affectée à chacune des conditions expérimentales d'après le barème suivant, quand le temps de demi-vie est :

- < 7 j 0
- > 7 j et < 14 j 20
- > 14 j et < 21 j 40
- > 21 j et < 28 60
- > 28 j 80
- non calculable car concentrations stables 100

La note moyenne sur l'ensemble des conditions expérimentales pour lesquelles l'analyte est détecté donne l'indice de conservativité (Tableau 98).

Tableau 98. Indice de conservativité.

Analyte	Indice	Analyte	Indice
bromazépam	100	salbutamol	40
nordiazépam	100	métoprolol	33
alprazolam	100	acide fénofibrique	30
diazépam	100	naproxène	27
lorazépam	100	pravastatine	27
méprobamate	100	fluoxétine	24
primidone	100	kétoprofène	23
carbamazépine	100	hydroxy-ibuprofène	20
disopyramide	97	amitriptyline	20
névirapine	96	lamivudine	17
cétirizine	93	ibuprofène	17
oxazépam	80	aténolol	17
timolol	80	bisoprolol	17
diclofénac	57	propranolol	17
zidovudine	56	caféine	13
acébutolol	52	théophylline	13
losartan	47	abacavir	0
sotalol	43	ritonavir	0
gemfibrozil	40	saquinavir	0
bézafrate	40	paracétamol	0
ac. 4-chlorobenzoïque	40	atorvastatine	0
ranitidine	40	clopidogrel	0

Cette échelle de conservativité permet de déterminer les molécules à la fois persistantes et celles qui sont dégradées dans des conditions similaires à celles de la Gironde. Les psycholeptiques, comme les anticonvulsivants carbamazépine et primidone, sont classés comme des molécules très conservatives. Les analytes considérés comme labiles et régulièrement pris comme exemples au long de ces travaux, l'acide fénofibrique, l'ibuprofène et l'abacavir prennent les valeurs respectives de 30, 17 et 0, confirmant leur dégradabilité.

La comparaison plus générale aux taux d'abattelements et à l'échelle de conservativité déterminée dans la Jalle de Blanquefort sera effectuée en conclusion.

4.2.5 Synthèse sur la signification environnementale

En période d'étiage, la turbidité peut être multipliée par 10 en 3 h (cf. chapitre 1, section 7.6) avec une concentration en MES qui peut excéder 1 g.L^{-1} ; or les expériences de dégradation précédentes ont montré la faible variation des cinétiques de dégradation des analytes à ces niveaux de charge particulaire, par rapport aux plus faibles concentrations en MES. Cette faible influence des fortes charges particulaires sur les cinétiques implique que la diminution des rapports de concentration, par exemple sotalol sur carbamazépine, observée dans l'estuaire en période d'étiage (cf. chapitre 4.3, section 3.6.1), ne peut être attribuée à un éventuel rôle catalyseur du bouchon vaseux mais plutôt à l'augmentation des temps de résidence.

L'influence principale de la concentration en MES sur les cinétiques de dégradation est donc observée lorsque la charge particulaire est relativement faible, à distance du bouchon vaseux. La Figure 193 présente l'évolution de la turbidité, représentative de la concentration en MES, le 04/06/10 à Bordeaux, par un débit de $250 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en Garonne.

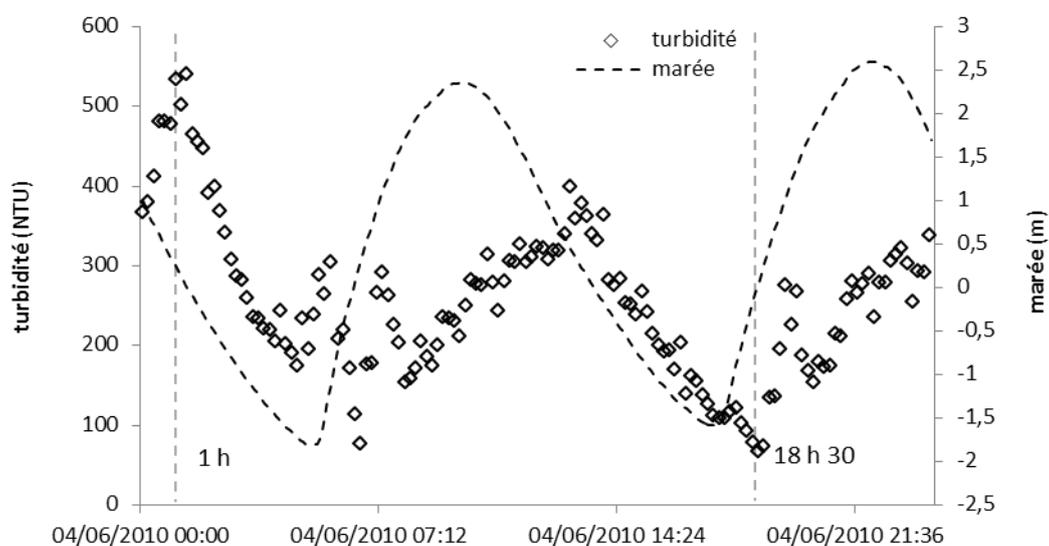


Figure 193. Turbidité et courbe de marée relevées le 04/06/2010 à Bordeaux par la station Magest. Il a été vu dans le chapitre 1, section 7.6, que le rapport entre la turbidité en NTU et les MES en mg.L^{-1} est proche de 1.

La turbidité varie d'un facteur 8 dans la journée, en fonction du cycle de marée. D'après les tendances $t_{1/2} = f(\text{MES})$ de la Figure 192 et les données de turbidité de la Figure 193, une molécule de bézafibrate déversée en Garonne au niveau de Bordeaux a un temps de demi-vie approximatif estimé à 14 j à 1 h du matin ($\text{MES} \approx 550 \text{ mg.L}^{-1}$) contre 21 j à 18 h 30 ($\text{MES} \approx 50 \text{ mg.L}^{-1}$), sous l'hypothèse de conditions similaires (température, qualité de l'eau et de l'effluent, etc.). Ce calcul même approximatif et dérivé d'expériences simplificatrices *in-vitro*, démontre une vraisemblable

variabilité élevée des cinétiques de dégradation *in-situ*, en lien avec la variation des paramètres environnementaux.

Par ailleurs, les concentrations annuelles moyennes en MES à La Réole sont de l'ordre de $0,1 \text{ g.L}^{-1}$ (Schäfer *et al.*, 2002), soit approximativement la concentration en MES de l'aquarium 1 dans le test de dégradation. Lorsqu'une molécule provenant de l'amont entre dans une zone de plus forte turbidité (sa localisation dépendant des débits fluviaux), sa cinétique de dégradation est susceptible de s'accélérer. A l'inverse, les cinétiques de dégradation ralentissent à mesure que les molécules sortent du bouchon vaseux. La persistance des analytes qui ont traversé le bouchon vaseux est donc supérieure dans les eaux moins turbides de l'estuaire aval.

Enfin, les expériences de dégradation ont été réalisées en conditions aérobies. Ying et Kookana (2003) ont montré que les dégradations en milieu marin des 5 micropolluants organiques à l'étude était très ralenties voire stoppées en conditions anoxiques par rapport aux conditions aérobies. Or, en période d'étiage, au niveau de Bordeaux, le pourcentage d'oxygène dissous peut atteindre des valeurs de l'ordre de 30 % à 1 m sous la surface (Lanoux *et al.*, 2013) et des conditions anoxiques sont observées au-delà de 140 g.L^{-1} de particules, c'est-à-dire dans la crème de vase (Abril *et al.*, 1999). La persistance de molécules sous ces conditions d'oxygénation faible est donc probablement accrue.

4.3 Partition dissous-particulaire

4.3.1 Evolution des concentrations au cours du temps

L'aquarium 2, dont les MES sont intermédiaires, a été choisi pour examiner l'évolution des concentrations portées par les phases dissoute et particulaire. En phase particulaire, 25 molécules ont été détectées contre 41 en phase dissoute. L'évolution de 4 analytes aux comportements typiques est présentée Figure 194.

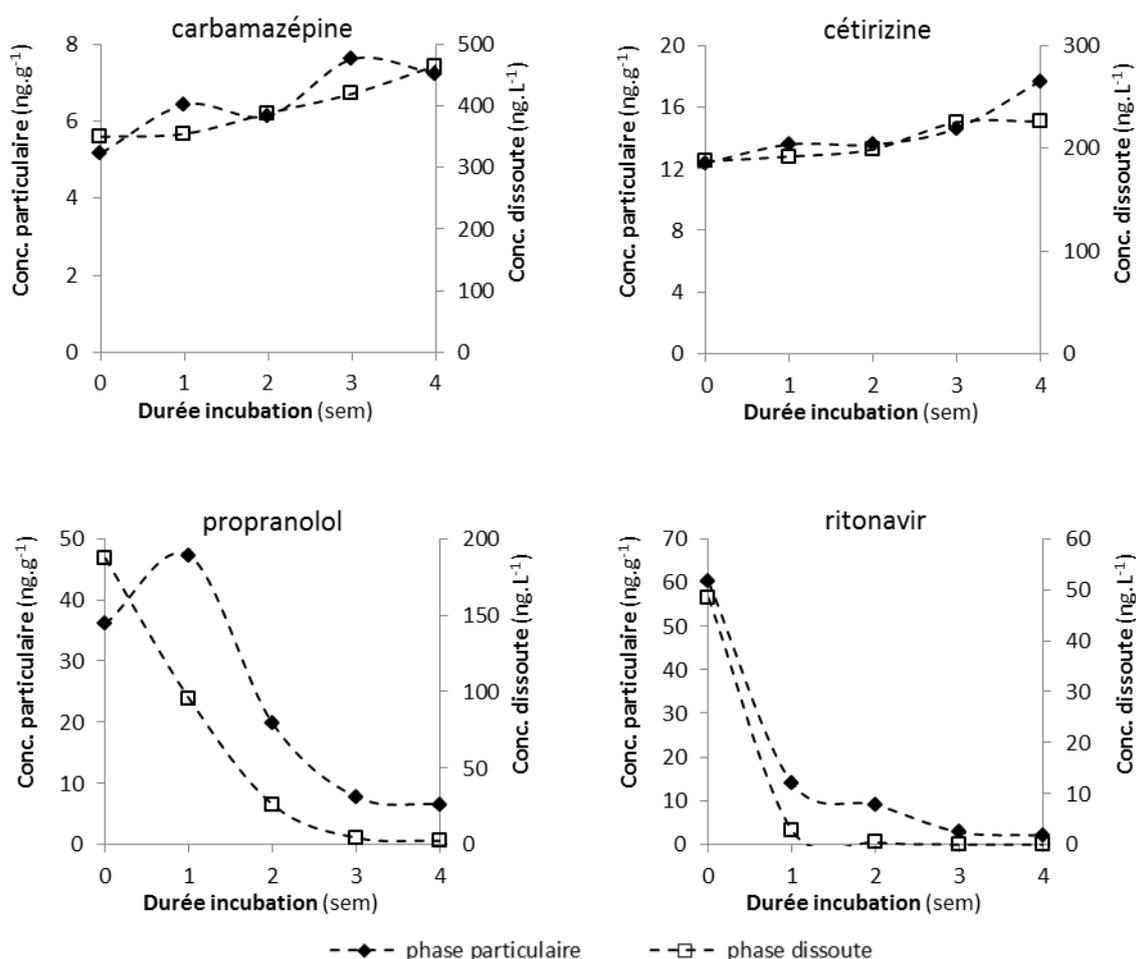


Figure 194. Evolution des concentrations en phase particulaire et en phase dissoute dans l'aquarium 2 au cours des incubations. Les concentrations, données en ng.g^{-1} poids sec, n'ont pas été normalisées par la concentration en carbamazépine.

Les concentrations en phase particulaire évoluent de la même manière qu'en phase dissoute. Dans le cas des molécules dégradées (propranolol, ritonavir), une concentration résiduelle sur les particules est observée alors que la concentration de la phase dissoute est inférieure aux limites de détection. Dans le cas du propranolol, la concentration initiale portée par les particules est inférieure à celle extrapolée au T0 suivant la tendance des points suivants. La cinétique du transfert vers la phase particulaire peut être en cause, des temps de demi-réaction d'adsorption de plusieurs heures ont été rapportés dans le cas d'oxazépam et sotalol (Burke *et al.*, 2013). La similarité de comportements en phase dissoute et en phase particulaire s'étend à l'ensemble des molécules détectées.

4.3.2 Evolution des concentrations selon les conditions expérimentales

Les concentrations mesurées dans les différentes conditions expérimentales sont comparées pour les quatre mêmes analytes que précédemment (Figure 195).

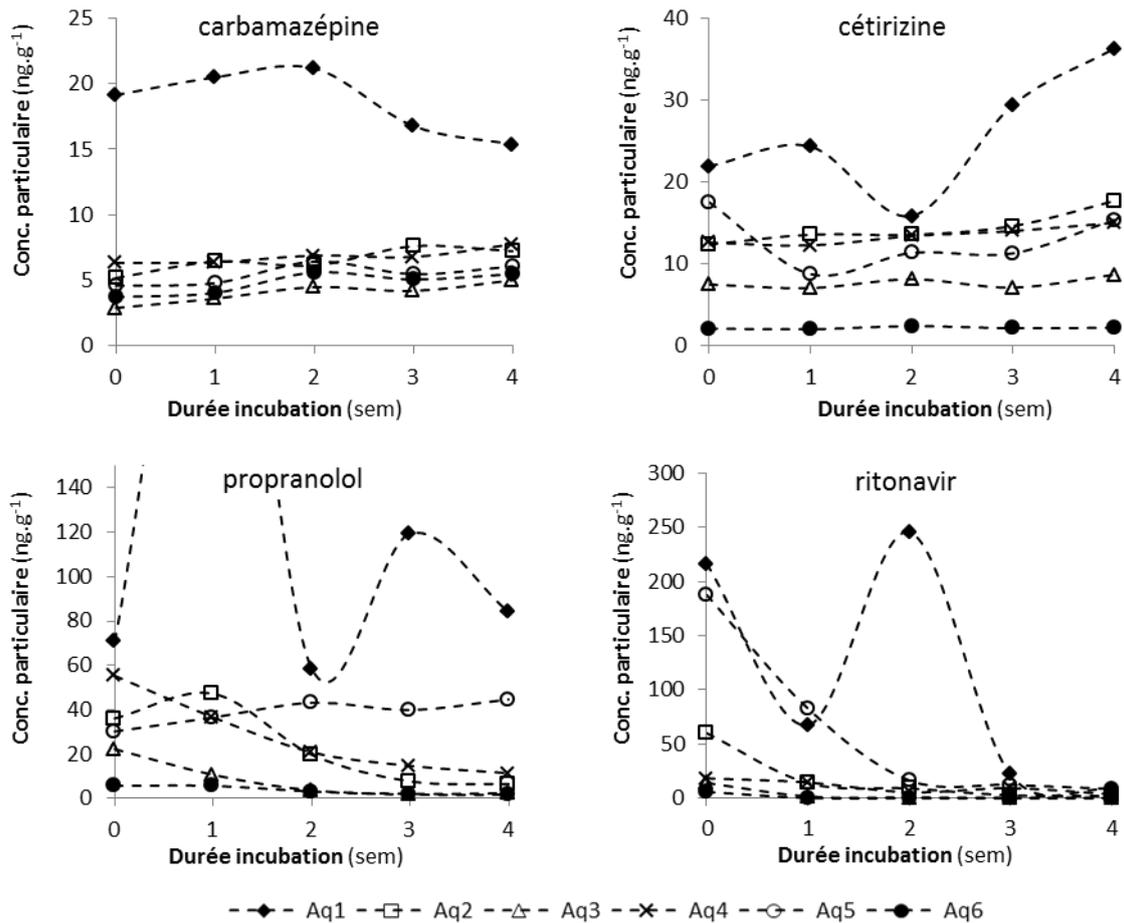


Figure 195. Comparaison des concentrations (ng.g⁻¹ poids sec) en phase particulaire entre les différentes conditions expérimentales.

En règle générale, les plus fortes concentrations sur la phase particulaire sont obtenues pour les faibles concentrations en MES, à taux de dilution et type d'effluent équivalent. L'équilibre entre analyte dissous et analyte adsorbé aux particules, défini par le coefficient de partage K_d , est donc fonction de la charge particulaire. La variabilité temporelle élevée de l'aquarium 1 est attribuée aux faibles masses de particules recueillies. La Figure 196 présente, pour les 4 analytes à l'étude, le coefficient de partage moyen observé pour chaque condition expérimentale. Conformément aux observations précédentes, les coefficients de partage sont maximaux pour l'aquarium 1 à faible charge particulaire et minimaux pour l'aquarium 3 à forte charge particulaire.

Le suivi des concentrations en carbamazépine, propranolol et diclofénac en phase particulaire dans la rivière Kent, Royaume-Uni, a permis de mettre en évidence la relation entre le K_d et la teneur en MES suivant une loi de puissance, le K_d décroissant pour des concentrations en MES croissant (Zhou et Broodbank, 2013). Les auteurs attribuent cette observation, analogue à celle faite sur les particules des incubations, à une combinaison de facteurs multiples, incluant une composition plus adsorbante aux faibles concentrations en MES (liée au contenu en éléments fins et en matière organique), une plus forte désorption aux fortes teneurs en MES en raison de l'augmentation des interactions entre particules ainsi que la quantité supérieure de colloïdes produits aux forts taux de MES, rentrant en compétition avec les particules pour adsorber les micropolluants.

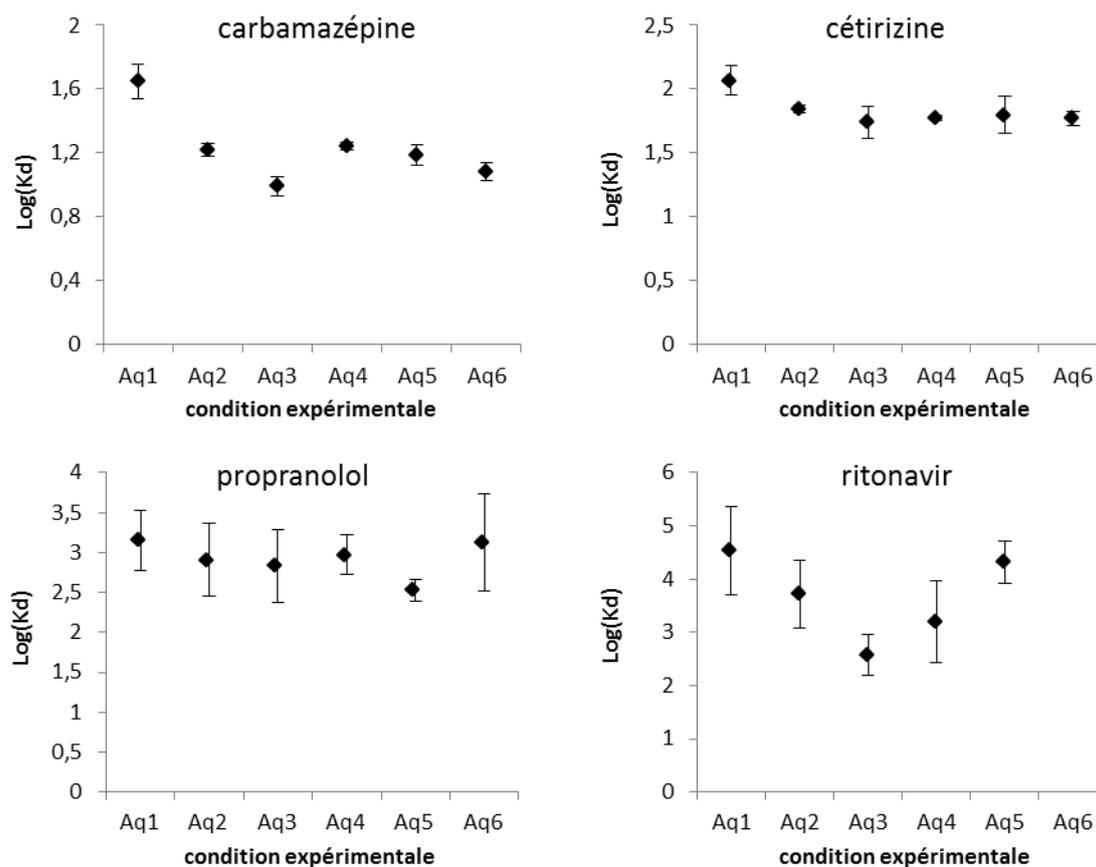


Figure 196. Coefficients de partage moyens entre phases dissoute et particulaire calculés comme la moyenne des coefficients de partage des points cinétiques de chaque condition expérimentale, à condition qu'au moins 2 K_d soient calculables (n=2 à 5 selon les conditions et les molécules).

Les coefficients de partage entre phases dissoute et particulaire observés dans la condition de concentration en MES intermédiaire (aquarium 2) sont donnés pour l'ensemble des composés détectés en phase dissoute et particulaire à 2 points cinétiques minimum (Tableau 99). Les valeurs calculées sont en accord avec celles déterminées dans la Gironde et dans la Jalle, aux écarts-types près.

Tableau 99. Coefficients de partage moyens entre phases dissoute et particulaire. Calculée dans l'aquarium 2, pour les composés détectés en phase dissoute et particulaire à 2 points cinétiques minimum. n=2 à 5.

Analyte	Log(K _d) aq2	Gironde	Jalle - juillet
ritonavir	3,7 ± 0,6	-	3,7 ± 0,2
nordiazepam	1,5 ± 0,2	-	-
diazepam	1,5 ± 0,02	-	-
oxazepam	1,5 ± 0,03	1,8 ± 0,3	2,4 ± 0,4
diclofenac	1,2 ± 0,2	-	2,4 ± 0,8
bézafrate	1 ± 0,1	-	2,0 ± 0,4
acide fénofibrique	0,6 ± 0,6	-	2,0 ± 0,5
bisoprolol	2 ± 0,2	-	2,4 ± 0,4
metoprolol	1,7 ± 0,01	-	2,2 ± 0,5

Analyte	Log(K _d) aq2	Gironde	Jalle - juillet
propranolol	2,9 ± 0,5	2,8 ± 0,2	3,2 ± 0,5
sotalol	1,3 ± 0,1	-	2,2 ± 0,4
acebutolol	2,5 ± 0,1	2,8 ± 0,2	2,6 ± 0,4
amitriptyline	3,2 ± 0,1	-	3,9 ± 0,4
carbamazépine	1,2 ± 0,04	1,5 ± 0,3	2,0 ± 0,4
cétirizine	1,8 ± 0,03	2,2 ± 0,3	2,4 ± 0,4
losartan	0,6 ± 0,1	-	-
clopidogrel	1,6 ± 0,2	-	2,9 ± 0,4
disopyramide	2,3 ± 0,04	2,7 ± 0,3	2,6 ± 0,3

4.3.3 Evolution des proportions d'analyte fixé aux particules

En raisonnant en proportion d'analyte fixé aux particules (Figure 197), les conditions expérimentales se classent en fonction de la charge particulaire : plus les concentrations en MES sont élevées, plus la proportion d'analyte porté par les particules est forte. En outre, la proportion d'analyte fixé croît au cours du temps pour les 6 conditions expérimentales, même pour les molécules labiles, aux concentrations décroissantes dans le temps. Concernant ces dernières, ce résultat pourrait être attribué à une stabilité des molécules sous forme adsorbées supérieure à celle des molécules sous forme libre. Compte tenu de l'équilibre entre phases dissoute et particulaire, un transfert progressif de la phase particulaire vers la phase dissoute est possible à mesure que la fraction dissoute est dégradée. Dans le cas des molécules persistantes, le déplacement de l'équilibre vers la phase particulaire pourrait être la conséquence de l'évaporation de l'eau des aquariums dont il a déjà été question.

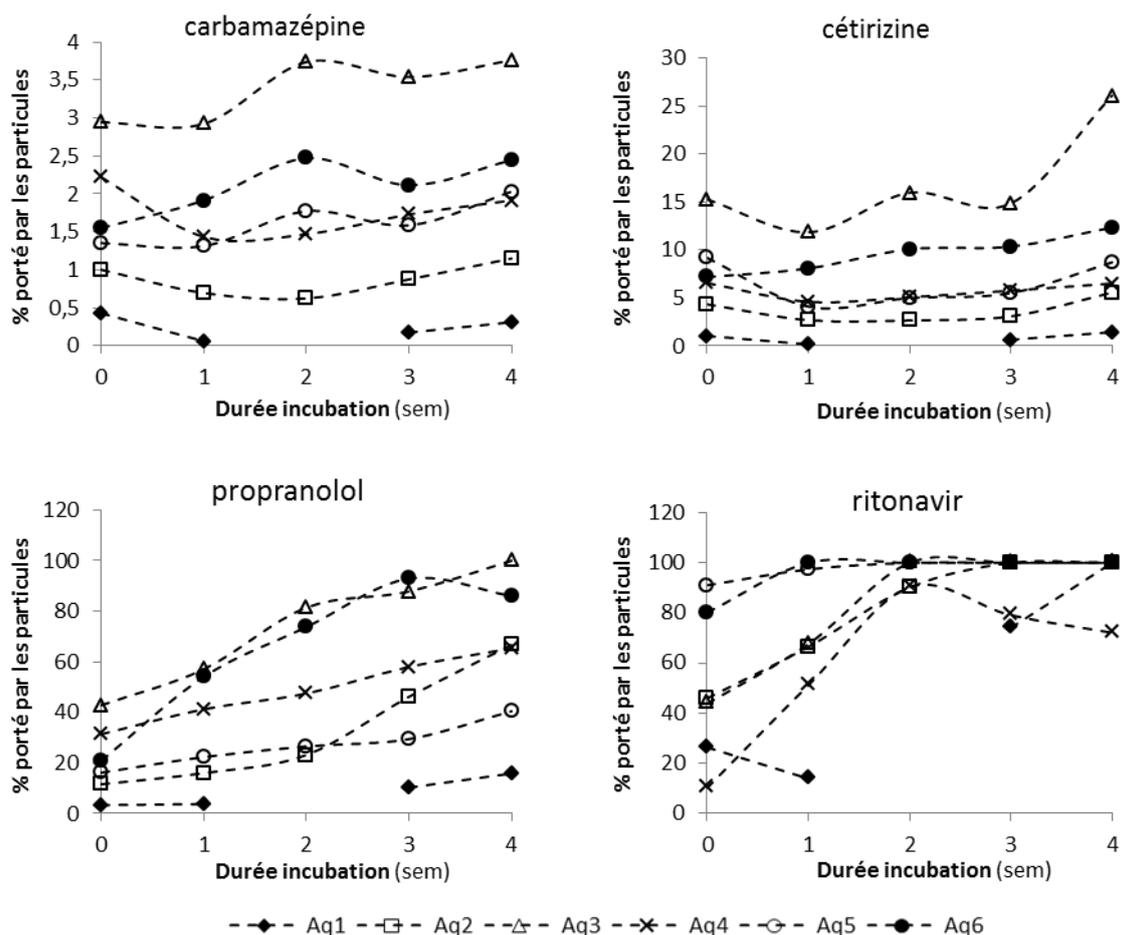


Figure 197. Proportion d'analyte fixé sur les particules dans les différentes conditions expérimentales.

Dans l'aquarium 5, qui a été empoisonné au chlorure mercurique, l'oxazépam, le nordiazépam, le sotalol et, dans une moindre mesure, le disopyramide (Figure 198), sont en forte proportion portés par la phase particulaire. Dans la condition abiotique, aux MES intermédiaires entre les conditions 2 et 3, ces analytes présentent une affinité pour la phase particulaire supérieure à celle des conditions biotiques comparables 2 et 3. Pour ces analytes, il est fait l'hypothèse que l'ajout de chlorure mercurique modifie la spéciation entre phases dissoute et particulaire, Hg(II) s'associant fortement à la matière organique dissoute et particulaire (Turner *et al.*, 2001 ; Ravichandran, 2004).

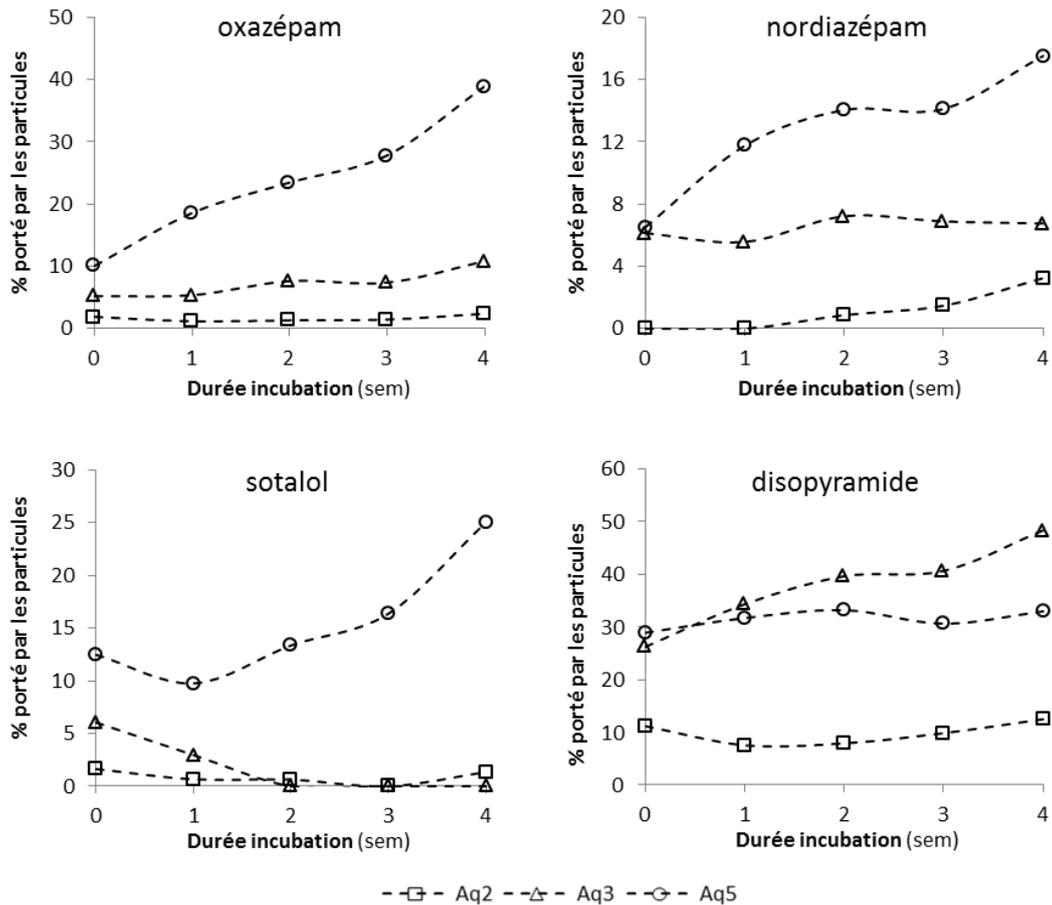


Figure 198. Proportion d'analyte fixé sur les particules dans les différentes conditions expérimentales pour oxazépam, nordiazépam, sotalol et disopyramide.

4.4 Approche complémentaire par analyse non ciblée

Les extraits de l'aquarium 2 (concentration en MES intermédiaire, taux de dilution 50:50) au départ des incubations et après 2 semaines ont été analysés en triplicats par LC-QTOF avec la méthode décrite dans le chapitre 2, section 4.2.1 et appliquée aux échantillons de STEP, chapitre 4.1, section 1.7, en mode d'ionisation positif et négatif. Les échantillons étant extraits suivant le protocole « médicaments », la SPE opère une sélection des analytes avant l'injection (non rétention d'analytes hydrophiles par exemple). L'identification des composés va s'appuyer sur les critères donnés dans le chapitre 2, section 4.2.2.

La Figure 199 donne le profil de masses nominales en fonction du temps de rétention pour les échantillons T_0 et $T_0 + 2$ semaines en mode d'ionisation positif. Les mêmes motifs polymériques que dans les échantillons de STEP sont présents (*cf.* chapitre 4.1, section 1.7.1). La présence de ces motifs polymériques induisant des erreurs d'attribution des formules brutes des molécules (*cf.* chapitre 4.1, section 1.7.1), celles-ci ne seront pas étudiées ici.

Le Tableau 100 résume les molécules détectées en fonction du mode d'ionisation, celles-ci étant schématiquement représentées Figure 200.

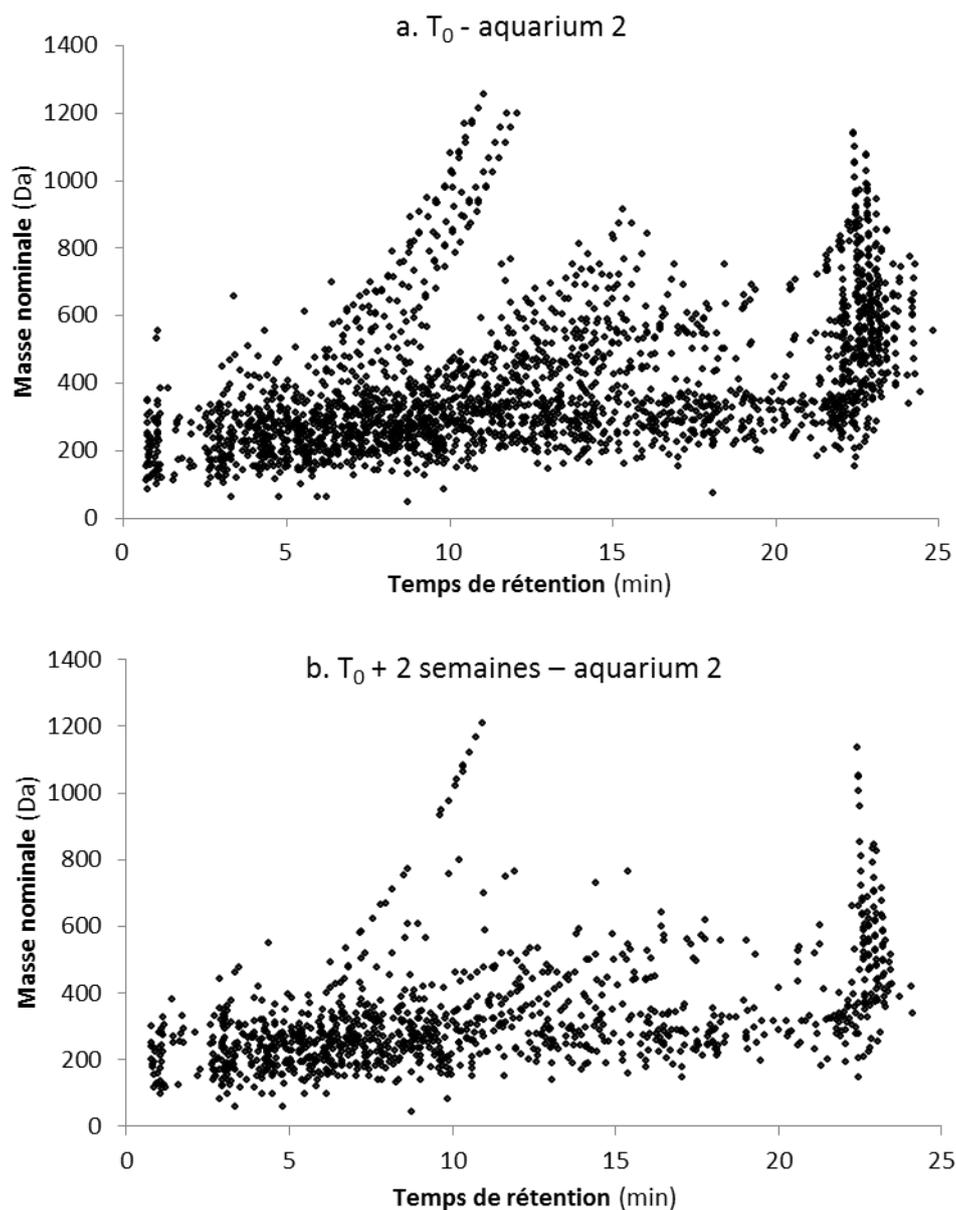


Figure 199. Profils de masses nominales détectées en fonction du temps de rétention sur les échantillons au départ des incubations et après 2 semaines.

Tableau 100. Nombre de molécules détectées dans les échantillons au départ des incubations et après 2 semaines, selon le mode d'ionisation.

	ESI+	ESI-	Somme
Total des molécules détectées (T_0 et $T_0 + 2$ sem)	2513	562	3075
Présents dans le T_0	2321	489	2810
Uniques au T_0	1220	313	1533
Présents dans le $T_0 + 2$ sem	1101	176	1277
Uniques au $T_0 + 2$ sem	192	73	265

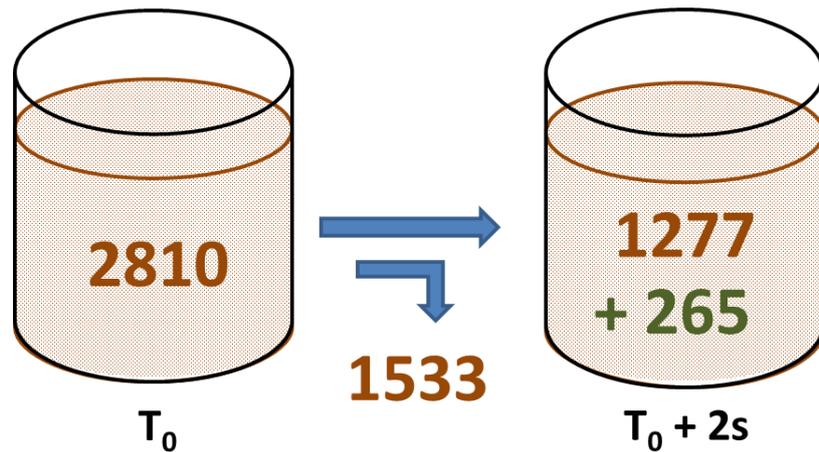


Figure 200. Schéma résumant les molécules détectées dans les incubations par analyse non ciblée suivant les modes d'ionisation ESI+ et ESI-.

Après 2 semaines d'incubation, plus de la moitié des molécules initialement présentes n'est plus détectée, le faible nombre de molécules apparues suggère une dégradation avancée. Près de 45 % des analytes sont persistants à l'échelle de 2 semaines.

La Figure 201 précise la répartition des molécules détectées en mode d'ionisation positif en fonction de leurs masses nominales. La catégorie des 1220 molécules uniques au T_0 , c'est-à-dire dégradées en 2 semaines d'incubation, sont prédominantes au-delà de 400 Da, il s'agit de molécules de masses globalement supérieures. A l'inverse, les molécules apparaissant au cours des incubations (les 192 molécules uniques au $T_0 + 2$ semaines) ont des masses plus faibles, indiquant que les mécanismes de dégradation sont basés sur des ruptures de liaison et non sur des recombinaisons. Enfin, les 1101 molécules récalcitrantes sur une période de 2 semaines sont également de faible masse nominale, inférieure à 400 Da pour plus de 80 % d'entre elles.

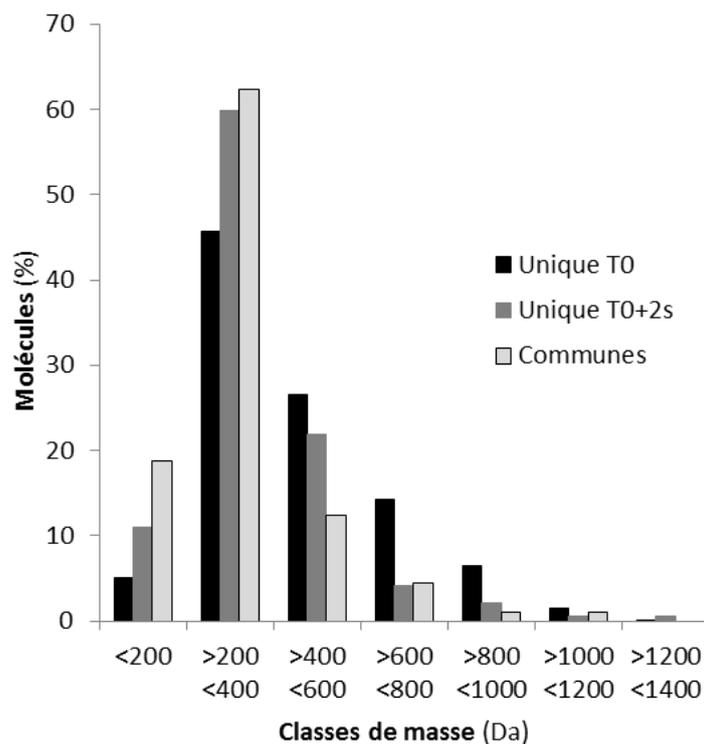


Figure 201. Répartition des molécules détectées en mode d'ionisation positif en fonction de leur masse nominale.

4.5 Conclusions

Les expériences d'incubations ont permis de caractériser *in-vitro* la dégradation de 45 médicaments dans un modèle simplifié de réacteur estuarien. Selon les conditions expérimentales, **de 8 à 14 analytes ont montré un comportement conservatif à l'échelle de 28 j**. À l'inverse, certaines molécules sont dégradées en moins d'une semaine et le suivi de leur dégradation nécessiterait un pas de temps de l'ordre de la journée. Les études par analyse non ciblée ont montré la faible apparition de nouvelles molécules pour une dégradation de 2 semaines, suggérant une minéralisation avancée plutôt que la génération de produits de transformation stables. Plus de 200 nouveaux composés, de masse globalement plus faible que celle des composés initiaux, ont toutefois été détectés après 2 semaines d'incubation.

La dégradation observée est biotique pour une majorité de composés, l'atténuation des concentrations de certains médicaments dans le témoin stérilisé indique également l'existence de phénomènes abiotiques autres que la photodégradation (expériences réalisées à l'abri de la lumière). L'absence de modification significative des temps de demi-vie des analytes dans la condition expérimentale composée d'effluent non traité suggère qu'un rejet d'eaux brutes dans le milieu n'affecte pas significativement les cinétiques de dégradation des médicaments.

La dégradation biotique des médicaments est accélérée pour des teneurs en MES croissantes. Cependant, à des concentrations en MES caractéristiques du bouchon vaseux, de l'ordre du gramme par litre et au-delà, les cinétiques n'évoluent plus sensiblement. L'influence des MES sur la vitesse de

biodégradation est particulièrement notable en-deçà de 500 mg.L^{-1} , c'est-à-dire quand une molécule issue de l'amont rencontre le début du panache de particules du bouchon vaseux.

L'équilibre entre la phase dissoute et la phase particulaire est fonction de la concentration en MES : **plus la concentration en MES est faible, plus l'affinité des analytes pour les particules est élevée.** Cet équilibre est responsable d'une bonne corrélation entre les concentrations en phases dissoute et particulaire à mesure de l'avancement de la dégradation, même si une tendance à l'augmentation des proportions portées par la phase particulaire est observée. Par conséquent, si la phase particulaire n'est pas le vecteur majoritaire de la contamination en médicaments, l'adsorption des médicaments à sa surface pourrait leur conférer une certaine stabilité ralentissant leur dégradation. Des mesures complémentaires le long d'un transect longitudinal de plusieurs dizaines de kilomètres, avant, dans et après le bouchon vaseux, permettrait de valider l'évolution de la partition dissous-particulaire.

Conclusion et perspectives

Les objectifs de ces travaux étaient de qualifier et de quantifier la contamination en médicaments et en filtres UV selon un continuum effluents urbains-milieu récepteur en proposant des éléments de réponse aux questions :

- Quels sont les apports de médicaments et de filtres UV aux stations d'épuration de l'agglomération de Bordeaux et quelles sont les performances de traitement de ces stations d'épuration vis-à-vis des composés d'intérêt ?
- Quelle est la part respective des apports amont et locaux ?
- Quels processus affectent les composés après leur rejet dans le milieu ?
- Quels rôles sur le devenir des effluents jouent la présence du bouchon vaseux et la stagnation résiduelle des eaux en période d'étiage ?

Afin de répondre à ces questions, il a fallu dans un premier temps se doter de méthodes analytiques permettant la caractérisation des molécules d'intérêt dans les systèmes considérés : effluents urbains, eaux de rivières, sédiments et particules. Ces méthodes analytiques mises au point, la problématique de ces travaux a été traitée selon une logique moléculaire d'une part et systémique d'autre part. La conclusion va ainsi s'articuler en trois parties avec le bilan du développement des outils analytiques, l'approche moléculaire et enfin l'approche systémique.

Développements analytiques

Les outils analytiques ont été développés pour l'analyse multi-résidus des médicaments sélectionnés dans les matrices eau, sédiments et particules et pour l'analyse des filtres UV dans l'eau. Ces méthodes instrumentales et préparatives ont été validées d'après leur sensibilité, leur robustesse et leur justesse. Les limites de quantification atteintes, inférieures à 5 ng.L⁻¹ pour 44 des médicaments et pour les 6 filtres UV, sont compatibles avec l'analyse de ces molécules à l'état de traces, dans des hydrosystèmes comme celui de la Gironde. L'échantillonnage passif par POCIS permet de repousser les limites de quantification, parfois jusqu'au dixième voire centième de nanogramme par litre, le gain de sensibilité a ainsi permis l'étude des processus de dégradation en Gironde pour un plus grand nombre de molécules aux faibles concentrations. Dans le cas de l'extraction de matrices solides, les limites de quantification sont inférieures à 5 ng.g⁻¹ pour 40 des 53 médicaments. Les méthodes d'extraction d'eaux, de matrices solides et de phase réceptrice de POCIS ont montré de bons rendements, dans une gamme de 80 à 120 % pour 44, 39 et 48 médicaments, respectivement. Les rendements d'extraction des filtres UV, globalement plus variables, sont situés dans une gamme acceptable de 50 à 120 %. Il a également été montré que l'échantillonnage, la filtration et la conservation des échantillons, étapes préalables nécessaires mais rarement considérées dans les validations méthodologiques (Ort *et al.*, 2010c ; Baker et Kasprzyk-Hordern, 2011b), n'affectent pas de façon majeure la préservation des analytes des échantillons. En revanche, les étapes préparatives de la SPE sont à l'origine de la perte de certains composés comme le paracétamol lors de la percolation ou l'aténolol lors de la reconcentration sous flux. Ces pertes, ainsi que les effets de matrice mis en évidence, appuient la nécessité d'utiliser des étalons internes adaptés, idéalement les homologues isotopiquement marqués des analytes, pour assurer une quantification juste et précise. Ce besoin devient une exigence quand il ne s'agit plus de documenter des niveaux de concentrations mais d'étudier des procédés, où un défaut de justesse peut entraîner des conclusions erronées (cas

des constats contradictoires de dégradation, de génération ou de stabilité de la carbamazépine lors de son traitement en STEP selon l'étalon interne choisi, abordé en chapitre 3.1, section 1.4).

D'un point de vue analytique, il serait intéressant d'adapter ces protocoles à des méthodes d'extraction semi-automatisées : SPE en ligne pour les matrices eau, extraction par micro-ondes automatisée pour les matrices solides. Ces techniques, en plus de réduire l'effort opératoire, limitent les manipulations susceptibles d'entraîner des pertes d'analyte. Dans le cas de la SPE en ligne, les faibles volumes extraits permettent de s'affranchir des volumes de fuite et l'absence d'étape de reconcentration sous flux restreint les pertes par dégradation ou adsorption. Dans le cas des filtres UV, limiter les manipulations permet également de limiter la contamination des échantillons, problème récurrent sur cette classe de composés. L'analyse par microextraction sur phase solide couplée à la chromatographie en phase gazeuse représente également une alternative de méthode semi-automatisée pour l'analyse des filtres UV.

Concernant l'échantillonnage des analytes par POCIS, la méthodologie de calcul développée intègre les variations des calibrations et de l'échantillonnage *in-situ* et a permis un bon ajustement des concentrations dans le système à fortes variabilités qu'est la Gironde. Les molécules surestimées ou sous-estimées lors des expositions de validation doivent encore faire l'objet de calibrations complémentaires. Les POCIS-Nylon représentent une alternative intéressante pour l'échantillonnage des molécules à temps de latence (médicaments hydrophobes, filtres UV) malgré l'atteinte rapide de l'équilibre. Dans le cas des filtres UV, des calibrations complémentaires sont nécessaires pour comprendre les causes des différences de concentration mesurées par prélèvement ponctuel et par échantillonnage passif. Par ailleurs, suite aux limitations attribuées aux paramètres environnementaux observées dans ces travaux (pour des températures hivernales dans l'estuaire, lors de régime hydrodynamique turbulent dans la Jalle), des calibrations en laboratoire mimant ces conditions pourraient être envisagées.

Approche moléculaire

Les niveaux de concentrations en STEP et en Garonne, les partitions dissous-particulaire et les comportements conservatifs ou dégradables synthétisés à partir des chapitres précédents sont donnés dans le Tableau 101. L'examen global du tableau montre la grande hétérogénéité des médicaments étudiés :

- Les niveaux de concentrations varient du nanogramme par litre à plus de 200 000 ng.L⁻¹ en entrée de STEP (paracétamol), plus de 3 000 ng.L⁻¹ en sortie de STEP (hydroxy-ibuprofène) et jusqu'à 200 ng.L⁻¹ en Garonne (paracétamol).
- Concernant l'affinité pour la phase particulaire dans l'estuaire, les analytes sont plutôt portés par la phase dissoute mais tous les comportements sont observés : certaines molécules comme la caféine sont non détectées en phase particulaire tandis que d'autres comme la fluoxétine sont non détectées en phase dissoute.
- Au sujet du devenir des molécules, elles peuvent avoir un comportement conservatif comme la carbamazépine ou très dégradable comme l'abacavir.

Dans le détail, les psycholeptiques, en particulier les benzodiazépines, sont quantifiés à de faibles concentrations (à l'exception d'oxazépam) mais présentent des comportements conservatifs contrairement aux analgésiques, concentrés mais sensiblement plus dégradables. Les dégradations ne sont pas systématiquement équivalentes entre la STEP et le milieu : les β -bloquants sont ainsi globalement réfractaires au traitement en STEP mais se dégradent dans le milieu, comme le montrent les incubations et les rapports moléculaires mesurés lors du suivi des analytes en Gironde. Les antirétroviraux, peu renseignés dans la littérature, regroupent une multitude de comportements et ne peuvent être traités comme une famille unique : l'abacavir est très dégradable et la névirapine est persistante alors que la lamivudine et la zidovudine ont des comportements intermédiaires. Enfin, le ritonavir est hydrophobe mais dégradable.

Les niveaux environnementaux de concentration sont liés aux niveaux de concentration des effluents et aux comportements conservatifs ou dégradables des analytes. En effet, les molécules apportées en majorité par les STEP de l'agglomération bordelaise sont pour la plupart celles qui se dégradent dans l'environnement. Abstraction faite des temps de transit, les apports amont, considérés en sortie des STEP amont avant leur transport jusqu'à l'estuaire, ne sont donc vraisemblablement pas plus faibles mais les molécules en question sont en réalité dégradées avant d'arriver à l'entrée de l'estuaire.

Ces travaux permettent de documenter les niveaux de concentration et les comportements des analytes lors des traitements en STEP et après déversement dans le milieu. Si la quantification et l'abattement en STEP font l'objet de plusieurs études dans la littérature, le devenir dans l'environnement de plusieurs molécules est ici caractérisé pour la première fois (antirétroviraux, bromazépam, sildénafil, losartan, clopidogrel, disopyramide). Selon les comportements conservatifs ou non, il est possible d'associer un ou plusieurs enjeux de recherche aux analytes étudiés : un enjeu de persistance et d'éventuelle toxicité par exposition chronique pour les plus conservatifs, un enjeu lié à la caractérisation des sous-produits des analytes dégradables puis à l'évaluation de leur toxicité et enfin, dans le cas des analytes hydrophobes, un enjeu analytique de détection dans les matrices solides et dans le biote, associé à leur éventuelle bioaccumulation et toxicité. Ces enjeux ont été appréciés dans la dernière colonne du tableau. Certaines molécules dégradables dans certains environnements et conservatives dans d'autres ont été marquées « complexes » : leur devenir doit être évalué dans un environnement donné et non globalement.

Dans le cas des filtres UV, le comportement globalement hydrophobe de ces molécules a pu être déterminé. Les disparitions observées entre l'entrée et la sortie de la STEP, plus marquées pour les filtres UV les plus hydrophobes, sont vraisemblablement dues à une séquestration dans les boues. En outre, il a été montré un apport saisonnier aux STEP et à la Garonne estuarienne, probablement en lien avec l'utilisation estivale supérieure des produits de protection solaire. En perspective, il s'agit pour ces molécules d'étudier la saisonnalité des concentrations dans l'estuaire et leur éventuelle dégradation dans le milieu mais surtout, en raison de leur hydrophobie, de renseigner la séquestration dans les boues de STEP et dans les particules du bouchon vaseux. L'apport continu des filtres UV au milieu étant avéré et leur bioaccumulation étant probable, la recherche de ces composés dans les espèces de l'estuaire devrait être envisagée (anguille, flet, alose...).

Tableau 101. Synthèse par analyte : 1) des niveaux de concentration mesurés en STEP (moyenne par temps sec), en Garonne (moyenne au point de Bordeaux) et apport majoritaire des STEP de Bordeaux ou de l'amont (rapport de flux entre parenthèses, symbole ≈ pour des rapports de flux équivalents) ; 2) de la partition dissous-particulaire *via* le pourcentage d'analyte porté par la phase dissoute et le coefficient de partage eau-particules mesurés dans la Jalle de Blanquefort et dans la Gironde (pour ritonavir, amitriptyline et fluoxétine, les pourcentages et les coefficients de partage sont susceptibles d'être supérieurs puisque, non détectés en phase dissoute, les valeurs de LQ ont été utilisées pour le calcul) ; 3) des données de conservativité en STEP (= 100 - rendement d'épuration - chapitre 4.1, section 1.3.2), dans la Jalle (*cf.* chapitre 4.2 section 2.4), dans l'estuaire (*cf.* chapitre 4.3, section 3.6.1) et lors des expériences d'incubations (*cf.* chapitre 4.4, section 4.2.4). Une conservativité faible, inférieure à 33 %, est précisée en vert, intermédiaire, comprise entre 33 et 67 % en orange et élevée, supérieure à 67 %, en rouge. bio. = biotique, abio. = abiotique.

Composés	Niveaux de concentration				Partition dissous-particulaire				Dégradation					ENJEUX
	entrée CH ng.L ⁻¹	sortie CH ng.L ⁻¹	Garonne Bordeaux ng.L ⁻¹	Apport majoritaire (rapport STEP/amont)	% particulaire Jalle	K _d Jalle	% particulaire estuaire	K _d estuaire	conservativité en STEP (%)	conservativité dans la Jalle (%)	dégradation saisonnière dans l'estuaire	type de dégradation (incubations)	indice de conservativité (incubations)	
abacavir	651 ± 193	211 ± 71	2,3 ± 1	STEP (10,8)	-	-	-	-	32	21	marquée	bio. (abio. non testé)	0	sous-produits
indinavir	4 ± 7	6 ± 4	ND	ND	-	-	-	-	67	-	-	-	-	-
lamivudine	82 ± 44	41 ± 23	2,6 ± 1,2	ND	-	-	-	-	42	37	-	bio. maj. et abio.	17	sous-produits
nelfinavir	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,1	ND	ND	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-
névirapine	8 ± 4	7 ± 3	0,5 ± 0,4	ND	-	-	-	-	76	139	non	-	96	persistance
ritonavir	235 ± 118	166 ± 122	0,5 ± 0,2	STEP (2,2)	39,7 ± 16,1	4,4 ± 0,4	26,2 ± 4,9	2,2 ± 0,3	61	54	-	abio.	0	hydrophobie, sous-produits
saquinavir	63 ± 28	6 ± 2	ND	ND	-	-	-	-	16	-	-	-	0	-
zidovudine	352 ± 129	184 ± 123	ND	ND	-	-	-	-	51	-	marquée	bio. maj. et abio.	56	sous-produits
bromazépam	14 ± 3	14 ± 4	ND	≈ (0,6)	-	-	-	-	-	-	-	stable	100	persistance
nordiazépam	31 ± 6	27 ± 7	0,6 ± 0,3	Amont (0,4)	1,2 ± 0,7	2,4 ± 0,2	-	-	85	93	non	stable	100	persistance
alprazolam	ND	4 ± 1	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	stable	100	persistance
diazépam	4 ± 1	3 ± 1	ND	Amont (0,3)	-	-	-	-	-	-	non	-	100	persistance
oxazépam	1336 ± 470	1334 ± 522	29,5 ± 9,4	Amont (0,4)	0,6 ± 0,5	2,4 ± 0,2	6,4 ± 4,9	1,8 ± 0,2	93	100	faible	faible mais abio.	80	persistance
lorazépam	28 ± 13	29 ± 14	1,6 ± 0,5	Amont (0,2)	-	-	-	-	-	50	faible	stable	100	persistance
clonazépam	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
méprobamate	531 ± 194	633 ± 239	6,4 ± 6,1	≈ (1,6)	0,2 ± 0,1	2 ± 0,4	-	-	100	76	-	stable	100	persistance
kétoprofène	3915 ± 756	1681 ± 874	36 ± 37	≈ (1,3)	-	-	-	-	41	36	-	bio.	23	sous-produits
naproxène	3272 ± 473	2219 ± 445	13,7 ± 7,8	STEP (4,9)	-	-	-	-	64	32	marquée	bio.	27	sous-produits

Composés	Niveaux de concentration				Partition dissous-particulaire				Dégradation					ENJEUX
	entrée CH ng.L ⁻¹	sortie CH ng.L ⁻¹	Garonne Bordeaux ng.L ⁻¹	Apport majoritaire (rapport STEP/amont)	% particulaire Jalle	K _d Jalle	% particulaire estuaire	K _d estuaire	conservativité en STEP (%)	conservativité dans la Jalle (%)	dégradation saisonnière dans l'estuaire	type de dégradation (incubations)	indice de conservativité (incubations)	
diclofénac	1372 ± 113	872 ± 136	14,4 ± 5,7	≈ (1)	-	-	-	-	60	78	marquée	bio.	57	complexe
ibuprofène	9094 ± 1160	946 ± 206	27,6 ± 20,7	≈ (1,9)	-	-	-	-	10	-	marquée	bio.	17	sous-produits
hydroxy- ibuprofène	29541 ± 24259	3074 ± 2728	70,1 ± 46,2	≈ (1,4)	-	-	-	-	16	31	-	bio.	20	sous-produits
paracétamol	224628 ± 61019	ND	198,6 ± 393,5	Amont (0,002)	-	-	-	-	0	29	-	-	0	sous-produits
gemfibrozil	317 ± 72	191 ± 53	1,6 ± 1,2	≈ (1)	-	-	-	-	57	32	marquée	bio.	40	sous-produits
béza fi brate	1075 ± 230	877 ± 275	4,4 ± 2,8	≈ (1,7)	0,1 ± 0	1,6 ± 0,4	-	-	80	50	-	bio.	40	complexe
ac. 4- chlorobenzoïque	229 ± 92	258 ± 119	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	bio.	40	sous-produits
acide féno fi brique	8518 ± 4104	2645 ± 873	27 ± 37,7	STEP (8,5)	0,2 ± 0,1	1,9 ± 0,3	-	-	49	35	-	bio.	30	sous-produits
acide clo fi brique	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	72	-	-	-	-
pravastatine	859 ± 270	72 ± 7	8,8 ± 8,6	ND	-	-	-	-	9	32	-	bio.	27	sous-produits
atorvastatine	62 ± 22	8 ± 6	ND	ND	-	-	-	-	1	-	-	-	0	sous-produits
aténolol	1554 ± 767	1279 ± 639	6,9 ± 4	≈ (1,9)	0,6 ± 0,5	2,1 ± 0,1	-	-	68	75	-	bio. maj. et abio.	17	complexe
bisoprolol	430 ± 171	404 ± 258	1,9 ± 0,9	STEP (3)	0,8 ± 0,6	2,5 ± 0,2	17,8 ± 11,2	1,9 ± 0,3	78	71	-	bio. maj. et abio.	17	complexe
métoprolol	111 ± 36	102 ± 45	0,9 ± 0,3	≈ (1,2)	1,1 ± 1	2,5 ± 0,1	-	-	81	96	-	bio.	33	complexe
propranolol	515 ± 163	345 ± 123	2 ± 0,8	≈ (1)	5,9 ± 4,6	3,4 ± 0,2	51 ± 23	2,8 ± 0,2	67	120	marquée	bio. maj. et abio.	17	hydrophobie
sotalol	2048 ± 1009	1865 ± 989	24,7 ± 9,2	≈ (0,7)	0,4 ± 0,3	2,1 ± 0,1	-	-	77	87	marquée	bio.	43	complexe
timolol	8 ± 3	8 ± 4	0,1 ± 0,1	ND	-	-	-	-	90	84	-	-	80	-
acébutolol	1910 ± 322	684 ± 807	6,6 ± 2,8	≈ (1,4)	1,6 ± 1,2	2,9 ± 0,2	40,3 ± 20,8	2,8 ± 0,2	57	74	marquée	bio. (abio. non testé)	52	complexe
imipramine	0,4 ± 0,5	0,4 ± 0,3	ND	ND	11,6 ± 9,2	3,6 ± 0,2	-	-	-	-	-	-	-	hydrophobie
doxépine	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
amitriptyline	37 ± 14	17 ± 5	0,3 ± 0,1	ND	20,4 ± 11,9	4,1 ± 0,2	38,7 ± 18,5	2,5 ± 0,1	53	111	marquée	abio.	20	hydrophobie, sous-produits
fluoxétine	33 ± 22	21 ± 7	ND	ND	32 ± 13,5	4,2 ± 0,3	45,3 ± 22	2,9 ± 0,2	75	117	-	abio.	24	hydrophobie, sous-produits

Conclusion et perspectives

Composés	Niveaux de concentration				Partition dissous-particulaire				Dégradation					ENJEUX
	entrée CH ng.L ⁻¹	sortie CH ng.L ⁻¹	Garonne Bordeaux ng.L ⁻¹	Apport majoritaire (rapport STEP/amont)	% particulaire Jalle	K _d Jalle	% particulaire estuaire	K _d estuaire	conservativité en STEP (%)	conservativité dans la Jalle (%)	dégradation saisonnière dans l'estuaire	type de dégradation (incubations)	indice de conservativité (incubations)	
primidone	174 ± 128	70 ± 24	6,7 ± 4,6	Amont (0,2)	-	-	-	-	47	114	faible	stable	100	persistance
carbamazépine	732 ± 212	657 ± 237	17,9 ± 7,3	Amont (0,4)	0,3 ± 0,2	2 ± 0,1	3 ± 2,2	1,5 ± 0,3	85	113	non	stable	100	persistance
cétirizine	951 ± 456	565 ± 196	5,6 ± 2,4	Amont (0,5)	1,1 ± 0,7	2,6 ± 0,2	21,1 ± 11,6	2,2 ± 0,3	65	90	marquée	bio.	93	persistance
ranitidine	40 ± 23	1 ± 1	1,7 ± 0,5	ND	-	-	-	-	7	-	-	bio. (abio. non testé)	40	sous-produits
clenbuterol	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
caféine	8034 ± 3265	1884 ± 1395	149,2 ± 84,1	Amont (0,1)	-	-	-	-	27	37	-	bio. maj. et abio.	13	sous-produits
théophylline	4251 ± 1566	2571 ± 1414	146,7 ± 120,1	Amont (0,3)	-	-	-	-	63	20	-	bio. maj. et abio.	13	sous-produits
sildénafil	0,9 ± 1,2	3 ± 4	0,2 ± 0,1	ND	8,7 ± 6,4	3,5 ± 0,2	-	-	100	-	-	-	0	hydrophobie
losartan	1222 ± 58	218 ± 254	3 ± 1,8	STEP (11,5)	0,3 ± 0,3	1,9 ± 0,4	-	-	52	81	marquée	bio.	47	complexe
salbutamol	18 ± 9	17 ± 9	ND	ND	-	-	-	-	83	59	-	-	40	-
clopidogrel	98 ± 15	9 ± 10	1,4 ± 2,1	Amont (0,3)	1,2 ± 1,2	2,7 ± 0,2	-	-	30	114	marquée	abio.	0	sous-produits
terbutaline	0,5 ± 1	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
disopyramide	379 ± 177	162 ± 30	1,7 ± 1,1	≈ (1)	2,1 ± 1,5	2,9 ± 0,1	36,6 ± 21,6	2,7 ± 0,2	53	71	non	bio.	97	persistance

Approche systémique

La contamination globale des effluents urbains bruts présente une corrélation (non pas linéaire mais de rang) aux données de consommation des médicaments, la contribution des effluents hospitaliers étant vraisemblablement limitée. La prédiction des concentrations en entrée de STEP à partir des données de consommation est envisageable sous les conditions détaillée au chapitre 4.1, section 1.1.2, rendant possible l'estimation *a priori* des concentrations d'autres médicaments vérifiant ces conditions (substances actives de médicaments disponibles uniquement sur prescription, excrétion sous forme conjuguée nulle, prise par voie orale majoritaire). En STEP, les procédés de traitement primaire sont peu performants pour l'élimination des médicaments tandis que les procédés biologiques secondaires permettent, selon les composés, une élimination pouvant approcher 100 % (paracétamol, ibuprofène). Plusieurs molécules restent néanmoins réfractaires aux traitements secondaires biologiques (carbamazépine, méprobamate, oxazépam) et leur élimination complète pourrait s'envisager par des traitements tertiaires. La biofiltration opérée à Clos de Hilde a montré de meilleures performances d'épuration que le traitement par boues activées de Louis Fargue, la contamination de l'effluent de sortie de cette STEP étant en outre affectée par la proportion d'effluent non traité biologiquement. Depuis sa réhabilitation, l'intégralité de l'effluent est traité par biofiltration mais les mesures effectuées n'ont pas montré d'amélioration significative des performances de traitement pour les composés suivis. Un suivi plus long doit être conduit pour qualifier finement le fonctionnement de la STEP Louis Fargue sous cette configuration.

Si la variation intra-journalière de la composition des effluents est élevée, les variations inter-journalières et saisonnières se sont révélées minimes, excepté pour les filtres UV. Contrairement à ces dernières molécules, les médicaments à l'étude ne sont *a priori* pas associés à des traitements saisonniers. Par temps de pluie, les analytes sont dilués dans les effluents par l'apport d'eaux claires, sans modification significative des flux totaux ni des performances d'épuration. En revanche, le déversement d'eaux non traitées en Garonne par saturation des réseaux d'eaux usées est responsable d'un apport supplémentaire, particulièrement pour les composés les mieux traités en STEP.

L'influence du transport dans le réseau sur les concentrations a pu être mis en évidence par des variations atypiques par temps de pluie et par l'absence de formes conjuguées en entrée de STEP, celles-ci étant pourtant excrétées lors de l'élimination des médicaments. Le réseau étant alors à considérer comme un premier réacteur de traitement des eaux usées, il serait judicieux de mener des études complémentaires en amont des STEP afin de comprendre si le temps de transit est corrélé à la dégradation des analytes.

D'autre part, l'analyse non ciblée a montré que les 53 médicaments et les 6 filtres UV représentent une part infime de l'intégralité des composés détectés dans les effluents. En améliorant l'identification de ces milliers de composés, l'utilisation d'outils de caractérisation globale comme les diagrammes de Van Krevelen basés sur les rapports atomiques H/C, O/C et N/C ou les indices d'aromaticité permettront d'accéder à des informations structurales, traduisant des comportements globaux lors du traitement en STEP. En outre, l'analyse non ciblée a permis d'identifier 46 molécules à inclure de façon prioritaire aux listes de caractérisation des effluents, dont 13 molécules sont non renseignées dans la bibliographie, sous réserve de confirmation des structures par spectrométrie de masse en tandem.

Enfin, ces travaux sur les STEP de l'agglomération de Bordeaux suggèrent également des études complémentaires sur la séquestration des médicaments et des filtres UV dans les boues. Si les analytes y sont quantifiés à des concentrations significatives, les rendements d'épuration globaux (calculés sur la phase dissoute et particulaire) seraient diminués. D'autre part, les fortes variations intrajournalières mesurées devraient être étudiées sur 24 h à l'aide d'un préleveur automatique, certains médicaments pouvant montrer un profil journalier spécifique, en lien avec leur posologie.

L'hydrosystème de la Gironde reçoit des apports amont du bassin versant et des apports locaux de l'agglomération bordelaise. La part respective de ces apports est précisée par molécule dans le Tableau 101. En règle générale les molécules persistantes ont pour source principale l'amont et les molécules dégradables les STEP de Bordeaux. Il existe en effet une dégradation *in-situ* de certains analytes, et cela avant même l'arrivée dans l'estuaire. Une fois dans l'estuaire, l'augmentation progressive de la concentration en MES de l'amont vers l'aval engendre une accélération de cette biodégradation, particulièrement notable aux concentrations inférieures à 1 g.L^{-1} . Aux concentrations plus élevées, c'est-à-dire dans le bouchon vaseux, les expériences d'incubation d'effluent conduites suggèrent que les cinétiques de dégradation ne sont pas sensiblement accélérées, ce qui limiterait l'effet auto-épurateur du bouchon vaseux vis-à-vis des composés étudiés tel qu'il avait été pensé au début du programme Etiage. L'observation d'une dégradation saisonnière *in-situ*, mise en évidence par les approches de rapports moléculaires, est donc vraisemblablement plus la conséquence de l'augmentation estivale des temps de résidence des eaux, couplée aux températures plus élevées, que de l'augmentation de la concentration en MES. A moins d'atteindre une minéralisation complète, cette dégradation des micropolluants organiques peut générer de multiples sous-produits de structure, de persistance et de toxicité inconnues. Des expériences de dégradation *in-vitro* permettant de caractériser ces sous-produits au moyen des techniques analytiques non ciblées pourraient être conduites avant de rechercher ces molécules dans l'environnement.

En dépit de concentrations faibles sur les particules et de coefficients de partage dissous-particulaire globalement en faveur de la phase dissoute, la forte teneur en MES engendre une proportion non négligeable de médicaments fixés sur les particules. Les quantités de particules en suspension dans le bouchon vaseux (de 4 à 5 mégatonnes) peuvent ainsi séquestrer, suivant les analytes, plusieurs kilogrammes de médicaments. Cependant, le partage dissous-particulaire doit être étudié le long du gradient de salinité : il est en effet possible, par effet « salting out », que la proportion d'analyte fixé aux particules augmente ; le dépôt de ces particules dans les vasières Ouest Gironde et Sud Gironde pourrait alors constituer un stock de composés pharmaceutiques, s'ils ne sont pas dégradables.

Enfin, en raison de la complexité de l'hydrologie de l'estuaire, les approches par modélisation hydrodynamiques sont indispensables pour comparer les concentrations théoriques tenant compte des apports et des dilutions des masses d'eau aux concentrations réellement mesurées. Les tests préliminaires conduits dans ces travaux avec le LyRE au moyen du logiciel de simulation Mike 11 montrent des niveaux de concentration et des variations rapides différant des mesures effectuées. Le modèle utilisé, prometteur, nécessite encore des ajustements pour pouvoir l'appliquer à l'hydrosystème d'étude.

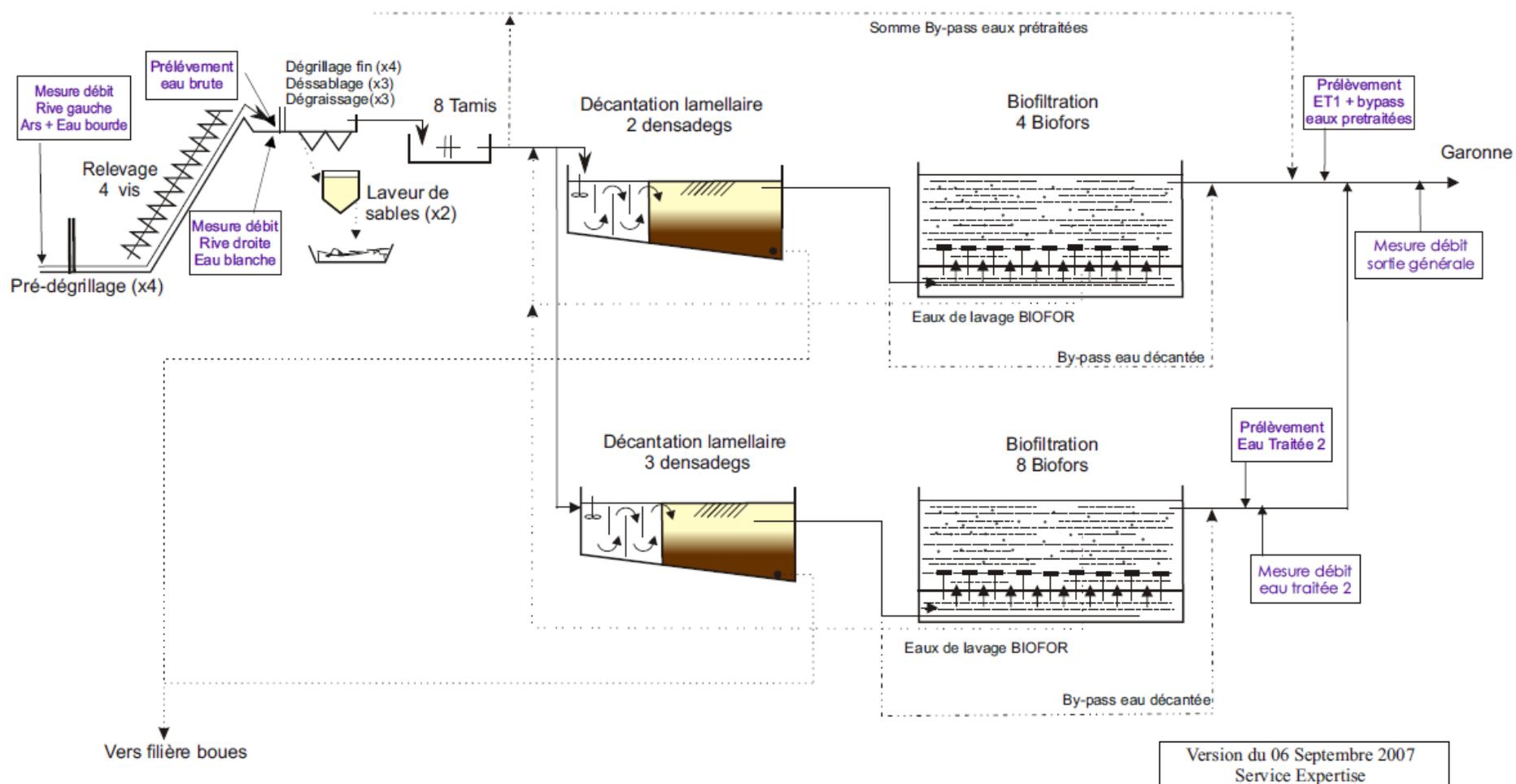
D'une manière générale, ces travaux confirment que les hydrosystèmes côtiers sont soumis à des pressions dues aux rejets urbains amont et locaux. Loin d'être un système inerte, l'estuaire de la Gironde est le siège de réactions physico-chimiques et biologiques complexes, faisant intervenir bactéries, matières en suspension et salinité, et affectant tant la spéciation des molécules que leur dégradabilité. Générés en STEP comme dans le milieu, d'une persistance et d'une toxicité inconnues, les produits de dégradation représentent un des enjeux actuels majeurs de la chimie analytique appliquée à l'environnement.

Annexes

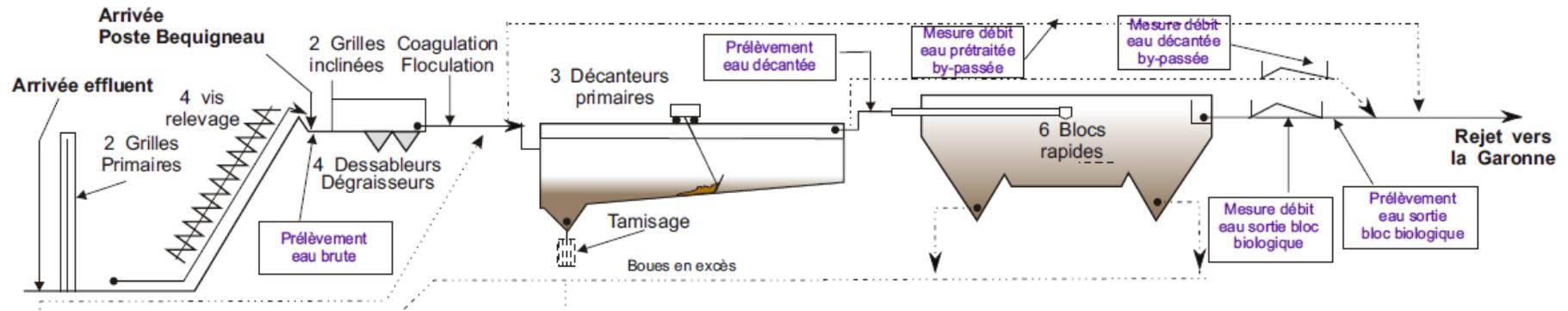
Annexes

Annexe 1.	Synoptique des STEP de l'agglomération bordelaise.....	399
Annexe 2.	Conditions de prélèvement des échantillons collectés dans le cadre du suivi annuel des STEP.....	402
Annexe 3.	Photographies aériennes des points de prélèvement.....	405
Annexe 4.	Conditions de prélèvement des échantillons collectés dans le cadre du suivi de la Jalle de Blanquefort.....	407
Annexe 5.	Conditions de prélèvement des échantillons collectés dans le cadre du suivi de l'estuaire de la Gironde.....	408
Annexe 6.	Fournisseurs des étalons analytiques.....	410
Annexe 7.	Paramètres instrumentaux des méthodes analytiques.....	412
Annexe 8.	Quantification par étalonnage interne.....	422
Annexe 9.	Guide de lecture des boîtes à moustache.....	423
Annexe 10.	Comportement des analytes lors du test de volume de fuite.....	424
Annexe 11.	Comportement des analytes lors de l'évaluation des pertes dues aux étapes préparatives.....	429
Annexe 12.	Adéquation des concentrations équivalentes mesurées par POCIS et des concentrations mesurées dans l'eau lors de la validation POCIS in-situ.....	431
Annexe 13.	Valeurs numériques des concentrations (ng.L-1) mesurées lors du suivi annuel des STEP.....	434
Annexe 14.	Evolution annuelle des flux (g.j-1) en entrée et en sortie des STEP.....	436
Annexe 15.	Valeurs numériques des concentrations mesurées lors du suivi de la Jalle de Blanquefort.....	440
Annexe 16.	Valeurs numériques des concentrations (ng.L-1) mesurées lors du suivi de l'estuaire.....	442
Annexe 17.	Niveaux de concentrations équivalentes (ng.L-1) mesurés par POCIS aux différents points de l'estuaire.....	444
Annexe 18.	Evolution annuelle des concentrations normalisées par la carbamazépine. Mesures par POCIS.....	448

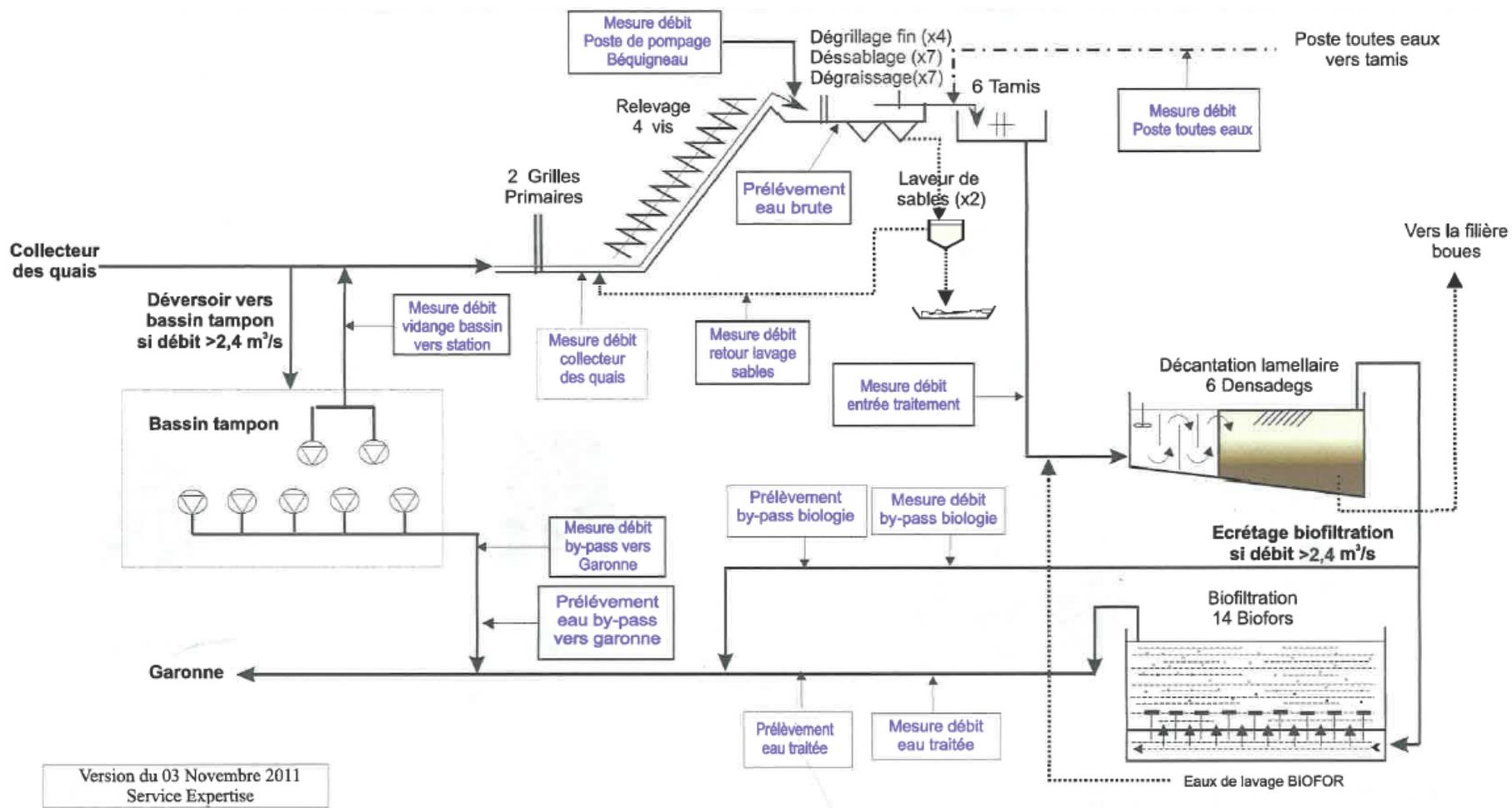
Annexe 1. Synoptique des STEP de l'agglomération bordelaise.



STEP Clos de Hilde



STEP Louis Fargue avant réhabilitation (avant décembre 11)



STEP Louis Fargue après réhabilitation (après décembre 2011)

Annexe 2. Conditions de prélèvement des échantillons collectés dans le cadre du suivi annuel des STEP.

Suivi STEP : février, mars, mai 2011

CHET2	code éch.	CHET2 08/02/11	CHET2 09/02/11	CHET2 10/02/11	CHET2 08/03/11	CHET2 09/03/11	CHET2 10/03/11	CHET2 03/05/11	CHET2 04/05/11	CHET2 05/05/11
	jour prélevé	07/02/11	08/02/11	09/02/11	07/03/11	08/03/11	09/03/11	02/05/11	03/05/11	04/05/11
	débit (m3/j)	63740	59360	60860	63680	64508	62904	50852	51668	52304
	pluvio. (mm)	0,2	0,2	0,2	0	0	0	0	0,1	0
CHET1	code éch.									
	jour prélevé									
	débit (m3/j)									
	pluvio. (mm)									
LFET	code éch.	LFET 08/02/11	LFET 09/02/11	LFET 10/02/11	LFET 08/03/11	LFET 09/03/11	LFET 10/03/11	LFET 03/05/11	LFET 04/05/11	LFET 05/05/11
	jour prélevé	07/02/11	08/02/11	09/02/11	07/03/11	08/03/11	09/03/11	02/05/11	03/05/11	04/05/11
	débit (m3/j)	50516	48714	47706	49 280	50 084	47 956	47 060	49 914	49 926
	pluvio. (mm)	0,3	0,2	0,1	0,1	0	0	0,3	0	0
LFED	code éch.	LFED 08/02/11	LFED 09/02/11	LFED 10/02/11	LFED 08/03/11	LFED 09/03/11	LFED 10/03/11	LFED 03/05/11	LFED 04/05/11	LFED 05/05/11
	jour prélevé	07/02/11	08/02/11	09/02/11	07/03/11	08/03/11	09/03/11	02/05/11	03/05/11	04/05/11
	débit (m3/j)	30496	31304	32400	36 904	35 600	37 600	24 296	19 400	19 200
	pluvio. (mm)	0,3	0,2	0,1	0,1	0	0	0,3	0	0
CHE	code éch.	CHE 08/02/11	CHE 09/02/11	CHE 10/02/11	CHE 08/03/11	CHE 09/03/11	CHE 10/03/11	CHE 03/05/11	CHE 04/05/11	CHE 05/05/11
	jour prélevé	07/02/11	08/02/11	09/02/11	07/03/11	08/03/11	09/03/11	02/05/11	03/05/11	04/05/11
	débit (m3/j)	67228	63074	65290	67728	67906	66358	57806	57566	58982
	pluvio. (mm)	0,2	0,2	0,2	0	0	0	0	0,1	0
LFE	code éch.	LFE 08/02/11	LFE 09/02/11	LFE 10/02/11	LFE 08/03/11	LFE 09/03/11	LFE 10/03/11	LFE 03/05/11	LFE 04/05/11	LFE 05/05/11
	jour prélevé	07/02/11	08/02/11	09/02/11	07/03/11	08/03/11	09/03/11	02/05/11	03/05/11	04/05/11
	débit (m3/j)	86260	85992	87192	93 400	91 068	85 320	78 032	72 524	72 300
	pluvio. (mm)	0,3	0,2	0,1	0,1	0	0	0,3	0	0

Suivi STEP : début juin, fin juin, août 2011

CHET2	code éch.	CHET2 07/06/11	CHET2 08/06/11	CHET2 09/06/11	CHET2 28/06/11	CHET2 29/06/11	CHET2 30/06/11	CHET2 2/8/11	CHET2 3/8/11	CHET2 4/8/11
	jour prélevé	06/06/11	07/06/11	08/06/11	27/06/11	28/06/11	29/06/11	01/08/11	02/08/11	03/08/11
	débit (m3/j)	49252	62648	61672	49624	47508	46292	40 288	68 160	60 852
	pluvio. (mm)	3,5	2,4	4	0,5	0	0	0	34,7	0
CHET1	code éch.									
	jour prélevé									
	débit (m3/j)									

	pluvio. (mm)									
LFET	code éch.	LFET 07/06/11	LFET 08/06/11	LFET 09/06/11	LFET 28/06/11	LFET 29/06/11	LFET 30/06/11	LFET 2/8/11	LFET 3/8/11	LFET 4/8/11
	jour prélevé	06/06/11	07/06/11	08/06/11	27/06/11	28/06/11	29/06/11	01/08/11	02/08/11	03/08/11
	débit (m3/j)	45 504	48 600	45 800	44000	41088	41914	40 896	68 704	37 296
	pluvio. (mm)	2,8	2	4,9	0,2	0	0	0	43,3	0
LFED	code éch.	LFED 07/06/11	LFED 08/06/11	LFED 09/06/11	LFED 28/06/11	LFED 29/06/11	LFED 30/06/11	LFED 2/8/11	LFED 3/8/11	LFED 4/8/11
	jour prélevé	06/06/11	07/06/11	08/06/11	27/06/11	28/06/11	29/06/11	01/08/11	02/08/11	03/08/11
	débit (m3/j)	16 800	41 050	63 600	16000	18704	19600	01/08/11	02/08/11	03/08/11
	pluvio. (mm)	2,8	2	4,9	0,2	0	0	18 696	52 200	96 104
CHE	code éch.	CHE 07/06/11	CHE 08/06/11	CHE 09/06/11	CHE 28/06/11	CHE 29/06/11	CHE 30/06/11	0	43,3	0
	jour prélevé	06/06/11	07/06/11	08/06/11	27/06/11	28/06/11	29/06/11	CHE 2/8/11	CHE 3/8/11	CHE 4/8/11
	débit (m3/j)	54458	65614	66386	50202	51032	51966	01/08/11	02/08/11	03/08/11
	pluvio. (mm)	3,5	2,4	4	0,5	0	0	45 420	75 270	63 892
LFE	code éch.	LFE 07/06/11	LFE 08/06/11	LFE 09/06/11	LFE 28/06/11	LFE 29/06/11	LFE 30/06/11	0	34,7	0
	jour prélevé	06/06/11	07/06/11	08/06/11	27/06/11	28/06/11	29/06/11	LFE 2/8/11	LFE 3/8/11	LFE 4/8/11
	débit (m3/j)	63 140	90 452	121 588	64724	62392	63956	01/08/11	02/08/11	03/08/11
	pluvio. (mm)	2,8	2	4,9	0,2	0	0	64 096	147 104	167 500

Suivi STEP : septembre, octobre, novembre 2011

CHET2	code éch.	CHET2 7/9/11	CHET2 8/9/11	CHET2 9/9/11	CHET2 4/10/11	CHET2 5/10/11	CHET2 6/10/11	CHET2 08/11/11	CHET2 09/11/11	CHET2 10/11/11
	jour prélevé	06/09/11	07/09/11	08/09/11	03/10/11	04/10/11	05/10/11	07/11/11	08/11/11	09/11/11
	débit (m3/j)	60 974	63 484	65 728	46940	47220	47780	55088	55722	51813
	pluvio. (mm)	2,9	0,9	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
CHET1	code éch.									
	jour prélevé									
	débit (m3/j)									
	pluvio. (mm)									
LFET	code éch.	LFET 6/9/11	LFET 7/9/11	LFET 8/9/11	LFET 4/10/11	LFET 5/10/11	LFET 6/10/11	LFET 08/11/11	LFET 09/11/11	LFET 10/11/11
	jour prélevé	05/09/11	06/09/11	07/09/11	03/10/11	04/10/11	05/10/11	07/11/11	08/11/11	09/11/11
	débit (m3/j)	40 410	45 818	45 792	42 800	44 704	50 410	48 298	50 192	49 904
	pluvio. (mm)	0,3	0	3,6	0	0	0,1	0	0	0,1
LFED	code éch.	LFED 6/9/11	LFED 7/9/11	LFED 8/9/11	LFED 4/10/11	LFED 5/10/11	LFED 6/10/11	LFED 08/11/11	LFED 09/11/11	LFED 10/11/11
	jour prélevé	05/09/11	06/09/11	07/09/11	03/10/11	04/10/11	05/10/11	07/11/11	08/11/11	09/11/11
	débit (m3/j)	20 696	16 000	27 504	20 496	18 504	13 200	25304	25496	20904
	pluvio. (mm)	0,3	0	3,6	0	0	0,1	0	0	0,1
CHE	code éch.	CHE 7/9/11	CHE 8/9/11	CHE 9/9/11	CHE 4/10/11	CHE 5/10/11	CHE 6/10/11	CHE 08/11/11	CHE 09/11/11	CHE 10/11/11

	jour prélevé	06/09/11	07/09/11	08/09/11	03/10/11	04/10/11	05/10/11	07/11/11	08/11/11	09/11/11
	débit (m3/j)	54 320	58 338	58 170	54006	53118	54180	60670	60482	58490
	pluvio. (mm)	2,9	0,9	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
LFE	code éch.	LFE 6/9/11	LFE 7/9/11	LFE 8/9/11	LFE 4/10/11	LFE 5/10/11	LFE 6/10/11	LFE 08/11/11	LFE 09/11/11	LFE 10/11/11
	jour prélevé	05/09/11	06/09/11	07/09/11	03/10/11	04/10/11	05/10/11	07/11/11	08/11/11	09/11/11
	débit (m3/j)	64 588	64 880	79 460	68 808	68 292	66 732	79440	82248	77028
	pluvio. (mm)	0,3	0	3,6	0	0	0,1	0	0	0,1

Suivi STEP : décembre 2011, janvier 2012

CHET2	code éch.	CHET2 05/12/11	CHET2 06/12/11	CHET2 07/12/11	CHET2 03/01/12	CHET2 04/01/12	CHET2 05/01/12
	jour prélevé	04/12/11	05/12/11	06/12/11	02/01/12	03/01/12	04/01/12
	débit (m3/j)	50304	58184	49368	56080	45164	56157
	pluvio. (mm)	10,6	8,9	7,6	7,2	0,2	6,5
CHET1	code éch.	CHET1 05/12/11	CHET1 06/12/11	CHET1 07/12/11	CHET1 03/01/12	CHET1 04/01/12	CHET1 05/01/12
	jour prélevé	04/12/11	05/12/11	06/12/11	02/01/12	03/01/12	04/01/12
	débit (m3/j)	33112	29248	31480	33392	32608	31728
	pluvio. (mm)	10,6	8,9	7,6	7,2	0,2	6,5
LFET	code éch.	LFET 05/12/11	LFET 06/12/11	LFET 07/12/11	LFET 4/01/12	LFET 5/01/12	LFET 6/01/12
	jour prélevé	04/12/11	05/12/11	06/12/11	03/01/12	04/01/12	05/01/12
	débit (m3/j)	46 800	45 488	43 408	108 170	158 550	124 280
	pluvio. (mm)	13,7	9,6	8,2	0,3	7,5	2,8
LFED	code éch.	LFED 05/12/11	LFED 06/12/11	LFED 07/12/11			
	jour prélevé	04/12/11	05/12/11	06/12/11			
	débit (m3/j)	98696	104400	106000			
	pluvio. (mm)	13,7	9,6	8,2			
CHE	code éch.	CHE 05/12/11	CHE 06/12/11	CHE 07/12/11	CHE 03/01/12	CHE 04/01/12	CHE 05/01/12
	jour prélevé	04/12/11	05/12/11	06/12/11	02/01/12	03/01/12	04/01/12
	débit (m3/j)	86548	89648	84888	90366	79560	89978
	pluvio. (mm)	10,6	8,9	7,6	7,2	0,2	6,5
LFE	code éch.	LFE 05/12/11	LFE 06/12/11	LFE 07/12/11	LFE 4/01/12	LFE 5/01/12	LFE 6/01/12
	jour prélevé	04/12/11	05/12/11	06/12/11	03/01/12	04/01/12	05/01/12
	débit (m3/j)	185512	183504	181472	108170	158550	126600
	pluvio. (mm)	13,7	9,6	8,2	0,3	7,5	2,8

Annexe 3. Photographies aériennes des points de prélèvement.

Points de prélèvement de la Jalle de Blanquefort



Points de prélèvement de la Gironde



Annexe 4. Conditions de prélèvement des échantillons collectés dans le cadre du suivi de la Jalle de Blanquefort.

Jalle de Blanquefort – 12 décembre 2011

	Amont	Non impacté	30 m	1 km	2 km	4 km	9 km
heure prélèv.	10h30.	14h00	10h00	11h15	14h45	12h45.	12h00
Température (°C)	11,2	11,7	11,8	12,2	12,4	12,3	12,3
pH	8,0.	7,1	7,7.	7,2.	7,3	7,1.	7,4
Conductivité ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	312	299	327	336	341	335	410

Annexe 5. Conditions de prélèvement des échantillons collectés dans le cadre du suivi de l'estuaire de la Gironde.

Suivi estuaire : juillet 11 à janvier 12

		29/07/2011	29/08/2011	29/09/2011	27/10/2011	23/11/2011	16/12/2011	12/01/2012
Pauillac	heure prélèv.	non éch.						
	salinité	non éch.						
Libourne	heure prélèv.	non éch.						
	salinité	non éch.						
Bordeaux	heure prélèv.	07h00	14h30	10h30	11h20	10h00	13h00	11h00
	salinité	0	0,45	2,7	-	0	0	0
Bègles	heure prélèv.	07h20	09h15	08h00	08h30	07h30	10h00	08h00
	salinité	-	-	-	-	0	0	0
Cadaujac	heure prélèv.	non éch.						
	salinité	non éch.						
St-Macaire	heure prélèv.	08h15	10h30	09h00	09h30	08h30	11h00	09h00
	salinité	0	0	0	0	0	0	0

Suivi estuaire : février 12 à juillet 12. En gris, conservation de la phase particulière.

		10/02/2012	08/03/2012	05/04/2012	02/05/2012	31/05/2012	03/07/2012	31/07/2012
Pauillac	heure prélèv.	13h00	13h00	13h00	-	13h00	-	15h00
	salinité	1	3	4,3	-	1	-	2,1
Libourne	heure prélèv.	11h00	11h00	11h00	-	11h00	-	13h00
	salinité	0	0	0	-	0	-	0
Bordeaux	heure prélèv.	12h00	12h00	12h00	-	12h00	-	14h00
	salinité	0	0	0	-	0	-	0
Bègles	heure prélèv.	09h00	11h45	09h00	-	09h00	-	11h00
	salinité	00h00	00h00	00h00	-	-	-	-
Cadaujac	heure prélèv.	09h20	09h20	09h20	-	09h20	-	11h20
	salinité	-	-	-	-	-	-	-
St-Macaire	heure prélèv.	10h00	10h00	10h00	-	10h00	-	12h00
	salinité	0	0	0	-	0	-	0

Suivi estuaire : août 12 à décembre 12. En gris, conservation de la phase particulière.

		28/08/2012	01/10/2012	25/10/2012	21/11/2012	18/12/2012
Pauillac	heure prélèv.	13h00	15h15	12h30	13h00	13h15
	salinité	4,5	8,5	6,7	8,3	4,8
Libourne	heure	11h00	11h45	10h45	11h05	11h12

	prélèv. salinité	0,1	0,7	0	0	0
Bordeaux	heure prélèv. salinité	12h00 0,4	12h35 1,6	11h20 0	11h45 0,2	12h00 0
Bègles	heure prélèv. salinité	09h00 0,5	09h30 1,4	08h30 0	08h45 0	08h35 0
Cadaujac	heure prélèv. salinité	09h20 0,2	10h00 0,4	09h00 0	09h15 0	14h00 0
St-Macaire	heure prélèv. salinité	10h00 0	10h25 0	09h45 0	10h05 0	09h50 0

Annexe 6. Fournisseurs des étalons analytiques.

Fournisseurs des médicaments

Natifs

Composé	Fournisseur	Composé	Fournisseur	Composé	Fournisseur
abacavir	LGC Standards	diclofénac	Sigma-Aldrich	imipramine	Sigma-Aldrich
indinavir	LGC Standards	ibuprofène	Sigma-Aldrich	doxépine	Sigma-Aldrich
lamivudine	LGC Standards	hydroxy-ibuprofène	Sigma-Aldrich	amitriptyline	Sigma-Aldrich
nelfinavir	LGC Standards	paracétamol	Sigma-Aldrich	fluoxétine	Sigma-Aldrich
névirapine	LGC Standards	gemfibrozil	Sigma-Aldrich	primidone	LGC Standards
ritonavir	LGC Standards	bézafibrate	Sigma-Aldrich	carbamazépine	Sigma-Aldrich
saquinavir	LGC Standards	ac. 4-chlorobenzoïque	Sigma-Aldrich	cétirizine	Sigma-Aldrich
zidovudine	LGC Standards	acide fénofibrique	Toronto Research Chemicals	ranitidine	Sigma-Aldrich
bromazépam	Sigma-Aldrich	acide clofibrique	Sigma-Aldrich	clenbuterol	Sigma-Aldrich
nordiazépam	Sigma-Aldrich	pravastatine	Sigma-Aldrich	caféine	Sigma-Aldrich
alprazolam	Sigma-Aldrich	atorvastatine	Toronto Research Chemicals	théophylline	Sigma-Aldrich
diazépam	Sigma-Aldrich	aténolol	Sigma-Aldrich	sildénafil	LGC Standards
oxazépam	Sigma-Aldrich	bisoprolol	Sigma-Aldrich	losartan	Sigma-Aldrich
lorazépam	Sigma-Aldrich	métoprolol	Sigma-Aldrich	salbutamol	Sigma-Aldrich
clonazépam	Sigma-Aldrich	propranolol	Sigma-Aldrich	clopidogrel	Toronto Research Chemicals
méprobamate	Sigma-Aldrich	sotalol	LGC Standards	terbutaline	Sigma-Aldrich
kétoprofène	Sigma-Aldrich	timolol	Sigma-Aldrich	disopyramide	LGC Standards
naproxène	Sigma-Aldrich	acébutolol	Sigma-Aldrich		

Etalons internes

Composé	Fournisseur	Composé	Fournisseur	Composé	Fournisseur
Abacavir d4	Toronto Research Chemicals	Diclofénac d4	Cluzeau Info Lab	Nordiazépam d5	CDN Istopes
Amitriptyline d6	LGC Standards	Acide fénofibrique d6	Cluzeau Info Lab	Oxazépam d5	Cluzeau Info Lab
Aténolol d7	Cluzeau Info Lab	Fluoxétine d5	Toronto Research Chemicals	Paracétamol d4	LGC Standards
Atorvastatine d5	Toronto Research Chemicals	Gemfibrozil d6	Cluzeau Info Lab	Pravastatine d3	Toronto Research Chemicals
Bézafibrate d6	Alsachim	2-hydroxy-ibuprofène d6	Toronto Research Chemicals	Primidone d5	Toronto Research Chemicals
Bromazépam d4	Toronto Research Chemicals	Ibuprofène d3	LGC Standards	Propranolol d7	Cluzeau Info Lab
Caféine d9	Cluzeau Info Lab	Indinavir d6	Toronto Research Chemicals	Salbutamol d3	Cluzeau Info Lab
Carbamazépine d10	Cluzeau Info Lab	Kétoprofène d3	Cluzeau Info Lab	Sildénafil d3	Cluzeau Info Lab
Cétirizine d8	Toronto Research Chemicals	Lamivudine ¹⁵ N ₂ - ¹³ C	Toronto Research Chemicals	Sotalol d7	Cluzeau Info Lab
Acide clofibrique d4	Cluzeau Info Lab	Méprobamate d3	Toronto Research Chemicals	Zidovudine d3	Toronto Research Chemicals
Diazépam d5	Cluzeau Info Lab	Naproxène d3	Cluzeau Info Lab		

Fournisseurs des filtres UV

Natifs

Composé	Fournisseur
Oxybenzone	Sigma-Aldrich
Avobenzone	Sigma-Aldrich

EHMC	Sigma-Aldrich
ODPABA	Sigma-Aldrich
4-MBC	Sigma-Aldrich
Octocrylène	Sigma-Aldrich

Etalons internes

Composé	Fournisseur
Oxybenzone d5	Cluzeau Info Lab
DHP d4	Dr Ehrenstorfer
DEHP d4	Dr Ehrenstorfer

LGC Standards Molsheim, France

Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France

Toronto Research Chemicals, North York, Toronto, Canada

Cluzeau Info Lab, Sainte Foy La Grande, France

Alsachim, Illkirch Graffenstaden, France

Dr Ehrenstorfer, Augsburg, Allemagne

Annexe 7. Paramètres instrumentaux des méthodes analytiques.

Méthode d'analyse : médicaments en mode d'ionisation positif

Instrument : HPLC 1200 Agilent Technologies couplé à un spectromètre de masse à triple quadrupôle Agilent Technologies 6410 avec ionisation par électronébulisation.

Paramètres d'injection : Les échantillons sont repris dans l'eau ultra-pure avant injection afin que le solvant de reprise ne soit pas plus éluant que le solvant de début de gradient (eau).

Volume d'injection : 5 μ L

L'aiguille d'injection ainsi que le siège de l'aiguille sont rincés avant chaque injection pendant 20 secondes par un solvant composé à 75 % d'acétonitrile et 25 % d'eau ultra-pure.

Phases mobiles et gradient d'éluion : La phase aqueuse est composée d'eau ultra-pure acidifiée par 0,1 % (vol.) d'acide formique. La phase organique est composée d'acétonitrile acidifié par 0,1 % (vol.) d'acide formique. Le gradient d'éluion appliqué est donné Figure 202. Le débit est de 0,6 mL.min⁻¹. Avec ce gradient, les analytes sont élués entre 0,8 min (lamivudine) et 9 min (ritonavir).

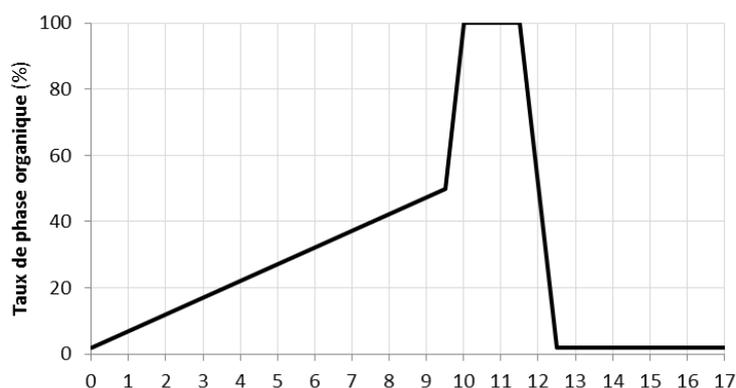


Figure 202. Gradient chromatographique appliqué pour l'analyse en mode ESI+.

Colonne : La colonne utilisée est une colonne en phase inverse greffée C18 de marque Agilent Zorbax® SB C18 (50 x 2,1 mm, diamètre des grains 1,8 μ m).

La colonne est thermostatée à 30 °C.

Paramètres de source :

Température de source : 300 °C

Type de gaz séchant : azote, fabriqué par un générateur d'azote

Débit du gaz séchant : 11 L.min⁻¹

Pression de nébulisation : 30 psi

Tension du capillaire : 3000 V

Paramètres de détection :

Analyte	Tension de fragmentor (V)	Rapport TC/TQx100	Transition de quantification	Energie de collision (eV)
			Transition de confirmation	
abacavir	150	13	287,2 -> 191,0	18
			287,2 -> 149,9	32
abacavir d4	126		291,2 -> 195,0	16
acébutolol	136	71	337,2 -> 116,0	20
			337,2 -> 56,0	36
alprazolam	120	93	309,1 -> 205,0	26
			309,1 -> 281,0	42
amitriptyline	130	90	278,2 -> 91,0	20
			278,2 -> 233,0	24
amitriptyline d6	120		284,2 -> 91,0	20
aténolol	130	4	267,2 -> 56,0	28
			267,2 -> 144,9	22
aténolol d7	130		274,2 -> 144,9	30
bézafibrate	87	88	362,1 -> 138,9	8
			362,1 -> 316,0	24
bézafibrate d6	98		368,2 -> 138,9	24
bisoprolol	150	50	326,2 -> 116,0	16
			326,2 -> 74,0	24
bromazépam	130	84	316,1 -> 182,0	28
			316,1 -> 209,0	34
bromazépam d4	136		320,0 -> 185,9	36
caféine	130	42	195,0 -> 138,0	18
			195,0 -> 41,7	30
caféine ¹³ C	130		196,0 -> 139,0	20
caféine d9	130		204,1 -> 144,1	16
carbamazépine	130	21	237,1 -> 194,0	20
			237,1 -> 192,0	20
carbamazépine d10	119		247,1 -> 204,1	16
cétirizine	98	18	389,2 -> 200,9	16
			389,2 -> 165,6	48
cétirizine d8	116		391,2 -> 201	16
clenbuterol	110	42	277,0 -> 203,0	12
			277,0 -> 259,0	16
clonazépam	141	35	316,1 -> 269,9	20
			316,1 -> 213,9	40
clopidogrel	98	67	322,1 -> 211,9	12
			322,1 -> 183,9	20

DEA d7	102		195,1 -> 146,9	17
DIA d5	87		179,1 -> 69	29
diazépam	120	33	285,0 -> 154,0	22
			285,0 -> 256,7	28
diazépam d5	120		290,0 -> 198,0	30
disopyramide	117	59	340,2 -> 239,0	12
			340,2 -> 194,0	48
doxépine	120	42	280,0 -> 107,0	24
			280,0 -> 84,1	24
fluoxétine	110	13	310,1 -> 43,8	8
			310,1 -> 148,0	22
fluoxétine d5	98		315,2 -> 44,0	8
imipramine	120	43	281,2 -> 86,0	20
			281,2 -> 58,1	30
indinavir	70	80	614,4 -> 421,1	10
			614,4 -> 97,0	34
indinavir d6	197		620,4 -> 421,1	32
isoproturon d6	98		213,2 -> 78,1	20
lamivudine	70	23	230,1 -> 112,0	8
			230,1 -> 94,9	46
lamivudine ¹⁵ N ₂ - ¹³ C	78		233,2 -> 115	4
lorazépam	117	31	321,0 -> 274,9	8
			321,0 -> 302,9	16
losartan	136	66	423,2 -> 206,9	4
			423,2 -> 405,0	20
méprobamate	74	70	219,1 -> 158,0	0
			219,1 -> 55,0	24
méprobamate d3	60		222,2 -> 161,1	4
métoprolol	140	80	268,2 -> 74,0	18
			268,2 -> 56,0	22
nelfinavir	150	81	568,3 -> 134,9	30
			568,3 -> 330,0	34
névirapine	150	28	267,1 -> 225,9	28
			267,1 -> 53,0	42
névirapine d3	136		270,2 -> 229,0	24
nordiazépam	130	74	271,0 -> 140,0	30
			271,0 -> 164,9	27
nordiazépam d5	120		276,0 -> 140,0	30
oxazépam	132	44	287,1 -> 240,9	8
			287,1 -> 268,9	20
oxazépam d5	121		292,1 -> 246,0	20
paracétamol	100	28	152,0 -> 110,0	16
			152,0 -> 93,0	26
paracétamol d4	100		156,0 -> 114,0	18
primidone	91	89	219,1 -> 91,0	8

			219,1 -> 161,9	28
primidone d5	73		224,1 -> 167,1	4
propranolol	120	79	260,2 -> 56,0	16
			260,2 -> 116,0	32
propranolol d7	110		267,2 -> 55,9	36
ranitidine	98	46	315,2 -> 175,9	12
			315,2 -> 130,0	24
ritonavir	130	96	721,3 -> 139,9	18
			721,3 -> 296,0	32
salbutamol	110	64	240,0 -> 148,0	15
			240,0 -> 222,0	18
salbutamol d3	100		243,0 -> 151,0	18
saquinavir	110	34	671,4 -> 570,2	10
			671,4 -> 127,9	46
sildénafil	210	9	475,2 -> 58,0	46
			475,2 -> 283,0	20
sildénafil d3	210		478,2 -> 61,0	54
sotalol	110	85	255,0 -> 212,9	10
			255,0 -> 133,0	30
sotalol d7	103		280,2 -> 262,1	4
terbutaline	100	32	226,0 -> 152,0	14
			226,0 -> 107,0	24
théophylline	110	33	181,0 -> 124,0	18
			181,0 -> 96,0	26
timolol	130	62	317,2 -> 74,0	14
			317,2 -> 261,0	22

Le gaz de collision est de l'azote 5.0 de pureté supérieure à 99,999 %.

L'analyseur étant opéré en MRM dynamique, la méthode comporte un total de 116 transitions, réparties de 2 à 53 transitions concurrentes acquises en parallèle. Le temps de cycle est fixé à 600 ms et le dwell time est variable de 12 à 397 ms.

Méthode d'analyse : médicaments en mode d'ionisation négatif

Instrument : HPLC 1200 Agilent Technologies couplé à un spectromètre de masse à triple quadrupôle Agilent Technologies 6410 avec ionisation par électronebulisation.

Paramètres d'injection : Les échantillons sont repris dans l'eau ultra-pure avant injection afin que le solvant de reprise ne soit pas plus éluant que le solvant de début de gradient (eau).

Volume d'injection : 5 µL

L'aiguille d'injection ainsi que le siège de l'aiguille sont rincés avant chaque injection pendant 20 secondes par de l'acétonitrile acidifié à 0,1 % d'acide formique.

Phases mobiles et gradient d'élution : La phase aqueuse est composée d'eau ultra-pure et la phase organique est composée d'acétonitrile. Le gradient d'élution appliqué est donné Figure 203. Le débit est de $0,6 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Avec ce gradient, les analytes sont élués entre 5,5 (acide 4-chlorobenzoïque) et 21,5 min (gemfibrozil).

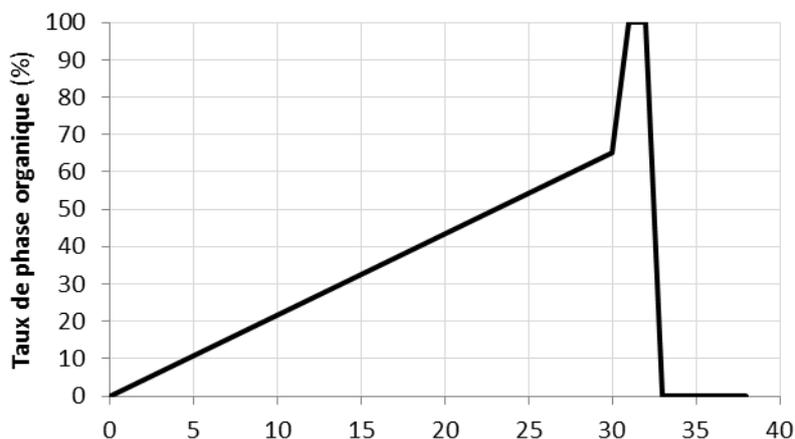


Figure 203. Gradient chromatographique appliqué pour l'analyse en mode ESI-.

La faible pente du gradient d'élution (2 % de phase organique par minute) est nécessaire pour une bonne résolution du kétoprofène, co-élué avec un interférent lors d'un gradient initial de 18 min. Lorsque le kétoprofène n'est pas à l'étude, il est donc envisageable d'accélérer le gradient et donc de réduire le temps d'analyse.

Colonne : La colonne utilisée est une colonne en phase inverse greffée C18 de marque Agilent Zorbax® SB C18 (50 x 2,1 mm, diamètre des grains $1,8 \mu\text{m}$).

La colonne est thermostatée à $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

Paramètres de source :

Température de source : $300 \text{ }^\circ\text{C}$

Type de gaz séchant : azote, fabriqué par un générateur d'azote

Débit du gaz séchant : $11 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$

Pression de nébulisation : 30 psi

Tension du capillaire : 3000 V

Paramètres de détection :

Analyte	Tension de fragmentor (V)	Rapport TC/TQx100	Transition quantification	Energie de collision (eV)

			Transition confirmation	
acide 4-chlorobenzoïque	71	11	155,0 -> 111,0	8
			155,0 -> 35,0	16
acide clofibrique	76	17	213,0 -> 126,9	0
			213,0 -> 85,0	8
acide clofibrique d4	75		217,1 -> 131,0	8
acide fénofibrique	88	1	317,1 -> 231,0	4
			317,1 -> 92,0	60
acide fénofibrique d6	82		323,1 -> 231,0	8
atorvastatine	159	74	557,2 -> 397,2	28
			557,2 -> 278,1	48
atorvastatine d5	149		562,3 -> 283,1	48
diclofénac	90	5	294,1 -> 249,9	6
			294,1 -> 214,0	18
diclofénac d4	90		298,1 -> 253,9	6
gemfibrozil	70	5	249,2 -> 120,8	4
			249,2 -> 126,8	12
gemfibrozil d6	90		255,4 -> 120,8	12
hydroxy-ibuprofène	65		221,1 -> 177,1	0
hydroxy-ibuprofène d6	72		227,2 -> 183,2	0
ibuprofène	80		205,2 -> 160,9	1
ibuprofène d3	70		208,2 -> 163,9	1
kétoprofène	60		253,2 -> 209,0	1
kétoprofène d3	60		256,2 -> 212,0	1
naproxène	70	43	229,1 -> 169,9	1
			229,1 -> 184,9	10
naproxène d3	60		232,1 -> 172,9	12
pravastatine	151	48	423,2 -> 321,1	8
			423,2 -> 101,1	32
pravastatine d3	151		426,3 -> 321,1	8
zidovudine	90	7	266,0 -> 223,0	2
			266,0 -> 193,0	6
zidovudine d3	78		269,1 -> 225,8	4

Le gaz de collision est de l'azote 5.0 de pureté supérieure à 99,999 %.

L'analyseur est opéré en MRM simple et le dwell time est fixé à 10 ms pour chacune des transitions.

Méthode d'analyse : filtres UV

Instrument : Waters Acquity Ultra Performance LC couplé à un spectromètre de masse à triple quadrupôle Waters Quattro Premier XE avec ionisation par électrospray.

Paramètres d'injection : Les échantillons sont injectés dans l'acétonitrile.

Volume d'injection : 5 μ L

Le système d'injection est rincé en deux temps : par un solvant dit « weak wash » qui est co-injecté avec l'échantillon et par un solvant dit « strong-wash » non injecté. Le solvant « weak-wash » est un mélange d'eau ultra-pure et d'acétonitrile (70/30, v/v) équivalent au solvant de début de gradient et le solvant « strong-wash » est de l'isopropanol.

Phases mobiles et gradient d'élution : La phase aqueuse est composée d'eau ultra-pure acidifiée par 0,1 % (vol.) d'acide formique. La phase organique est composée d'acétonitrile acidifié par 0,1 % (vol.) d'acide formique. En raison de sa pureté supérieure (99 %) et de son usage unique, l'acide formique utilisé conditionné en ampoules de 1 mL. Le gradient d'élution appliqué est donné Figure 204. Le débit est de 0,6 mL.min⁻¹. Avec ce gradient, les analytes sont élués entre 1,5 min (oxybenzone) et 3 min (octocrylène).

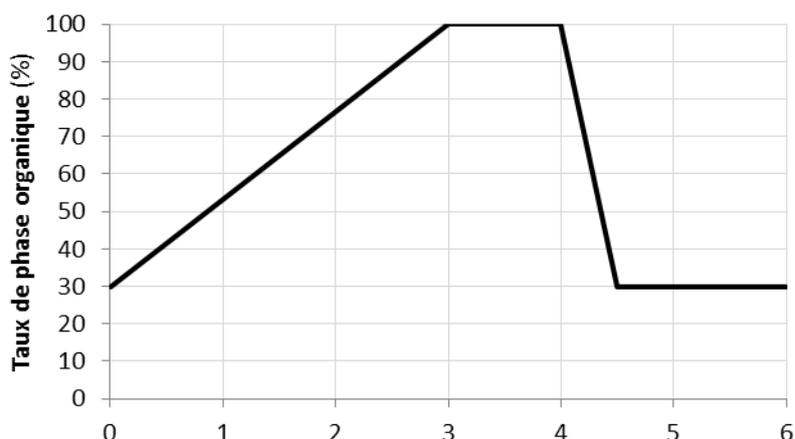


Figure 204. Gradient chromatographique appliqué pour l'analyse des filtres UV.

Colonne : La colonne utilisée est une colonne en phase inverse greffée C18 de marque Waters Acquity UPLC BEH C18 (50 x 2,1 mm, diamètre des grains 1,7 μ m).

La colonne est thermostatée à 35 °C.

Paramètres de source :

Température de source : 120 °C

Température de désolvatation : 400 °C

Type de gaz séchant : azote, fabriqué par un générateur d'azote

Débit du gaz séchant : 1000 L.h⁻¹

Tension du capillaire : 3000 V

Paramètres de détection

Analytes	Tension de cône (V)	Rapport TC/TQx100	Transition quantification	Energie de collision (eV)
			Transition confirmation	
Oxybenzone	30	41	229,2 -> 151,0	23
			229,2 -> 105,1	23
Oxybenzone d5	25		234,2 -> 151,1	20
4-MBC	25	58	255,3 -> 105,3	32
			255,3 -> 91,1	48
EHMC	15	54	291,2 -> 179,1	9
			291,2 -> 161,1	20
ODPABA	35	80	278,3 -> 166,2	22
			278,3 -> 151,2	33
Avobenzone	35	43	311,3 -> 161,2	24
			311,3 -> 135,1	26
Octocrylène	10	77	362,3 -> 250,3	13
			362,3 -> 232,4	25
DHP d4	15		339,2 -> 153,2	17
DEHP d4	25		395,3 -> 153,1	25

Le gaz de collision est de l'azote 5.0 de pureté supérieure à 99,999 %.

Le dwell time est fixé à 20 ms.

Méthode d'analyse : analyse non ciblée par LC-Q-TOF

Instrument : HPLC 1290 Infinity Agilent Technologies couplé à un spectromètre de masse hybride quadrupôle/temps de vol Agilent Technologies 6540 avec ionisation par électronébulisation à Jet Stream.

Paramètres d'injection : Les échantillons sont repris dans l'eau ultra-pure avant injection afin que le solvant d'élution ne soit pas plus éluant que le solvant de début de gradient (eau).

Volume d'injection : 5 µL

Phases mobiles et gradient d'élution : La phase aqueuse est composée d'eau ultra-pure acidifiée par 0,1 % (vol.) d'acide formique. La phase organique est composée d'acétonitrile acidifié par 0,1 % (vol.)

d'acide formique. Le gradient d'élution appliqué est donné Figure 205. Le débit est de $0,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Avec ce gradient, les analytes du protocole d'analyse ciblée sont élués entre 2,6 min (lamivudine) et 21,2 min (ritonavir).

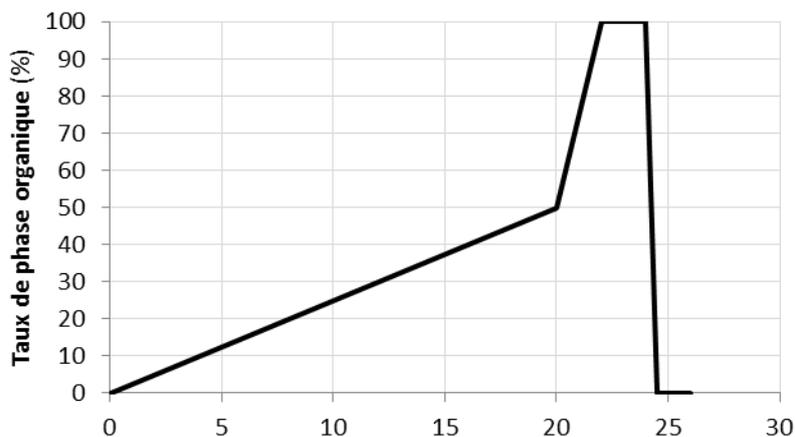


Figure 205. Gradient chromatographique appliqué pour l'analyse non-ciblée sur le Q-TOF.

Colonne : La colonne utilisée est une colonne en phase inverse greffée C18 de marque Phenomenex Kinetex® C18 100A (100 x 2,1 mm, diamètre des grains $1,7 \mu\text{m}$).

La colonne est thermostatée à $40 \text{ }^\circ\text{C}$.

Paramètres de source :

Température de source : $300 \text{ }^\circ\text{C}$

Type de gaz séchant : azote, fabriqué par un générateur d'azote

Débit du gaz séchant : $8 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$

Pression de nébulisation : 40 psi

Température du gaz fourreau : $400 \text{ }^\circ\text{C}$

Débit du gaz fourreau : $11 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$

Tension du capillaire : 3000 V

Paramètres de détection : Le spectromètre est paramétré en mode MS simple haute résolution : le quadrupôle ne sélectionne aucun ion et la cellule de collision est inactive. La tension de fragmentor est de 120 V. Le spectromètre est calibré avant injection par infusion d'une solution de référence où 10 ions de 118 à 2722 m/z sont formés en mode d'ionisation positif et 12 ions de 113 à 2834 m/z en mode d'ionisation négatif. Durant l'acquisition, l'exactitude en masse est contrôlée en continu par

infusion de cette même solution de référence, les ions suivis en mode positif étant 118,0863 et 922,0098 et 966,0007 en mode d'ionisation négatif. L'acquisition balaie la gamme de masse protonée de 40 à 1700 m/z à une vitesse de balayage de 2 GHz.

Annexe 8. Quantification par étalonnage interne.

Formules de calcul par dilution isotopique

Le calcul est basé sur la proportionnalité entre l'aire du pic d'un analyte et la masse injectée, relation fondamentale en chromatographie.

$$(1) A_i = k_i \cdot m_i \qquad (2) A_e = k_e \cdot m_e$$

Où m_i et A_i sont la masse et l'aire de composé natif injecté, m_e et A_e la masse et l'aire d'étalon interne injecté.

Le rapport de (2) sur (1) donne :

$$\frac{A_e}{A_i} = \frac{k_e \cdot m_e}{k_i \cdot m_i}$$

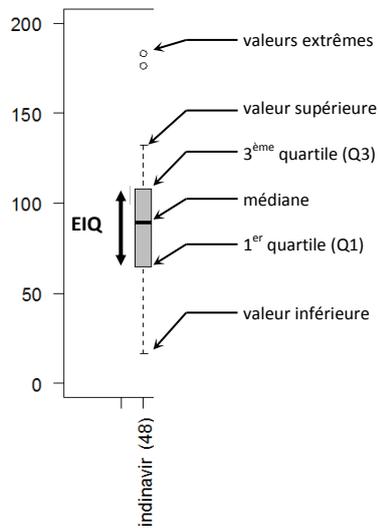
On pose alors : $K_i = \frac{k_e}{k_i}$, où K_i est le coefficient de réponse de i par rapport à e , il vient :

$$(3) K_i = \frac{m_i}{m_e} \cdot \frac{A_e}{A_i}$$

La détermination des coefficients de réponse s'effectue par le biais d'échantillons étalons analysés au début de chaque séquence d'analyse. Ces échantillons étalons sont constitués des étalons internes et des composés natifs dissous dans le mélange de solvant de début de gradient chromatographique (eau ultra-pure) en concentration connue, correspondant à l'injection de 400 pg d'analyte.

Dans un échantillon, on calcule la masse d'un analyte i d'après la relation suivante, obtenue à partir de la relation (3) :

$$(4) m_i = K_i \cdot m_e \cdot \frac{A_i}{A_e}$$

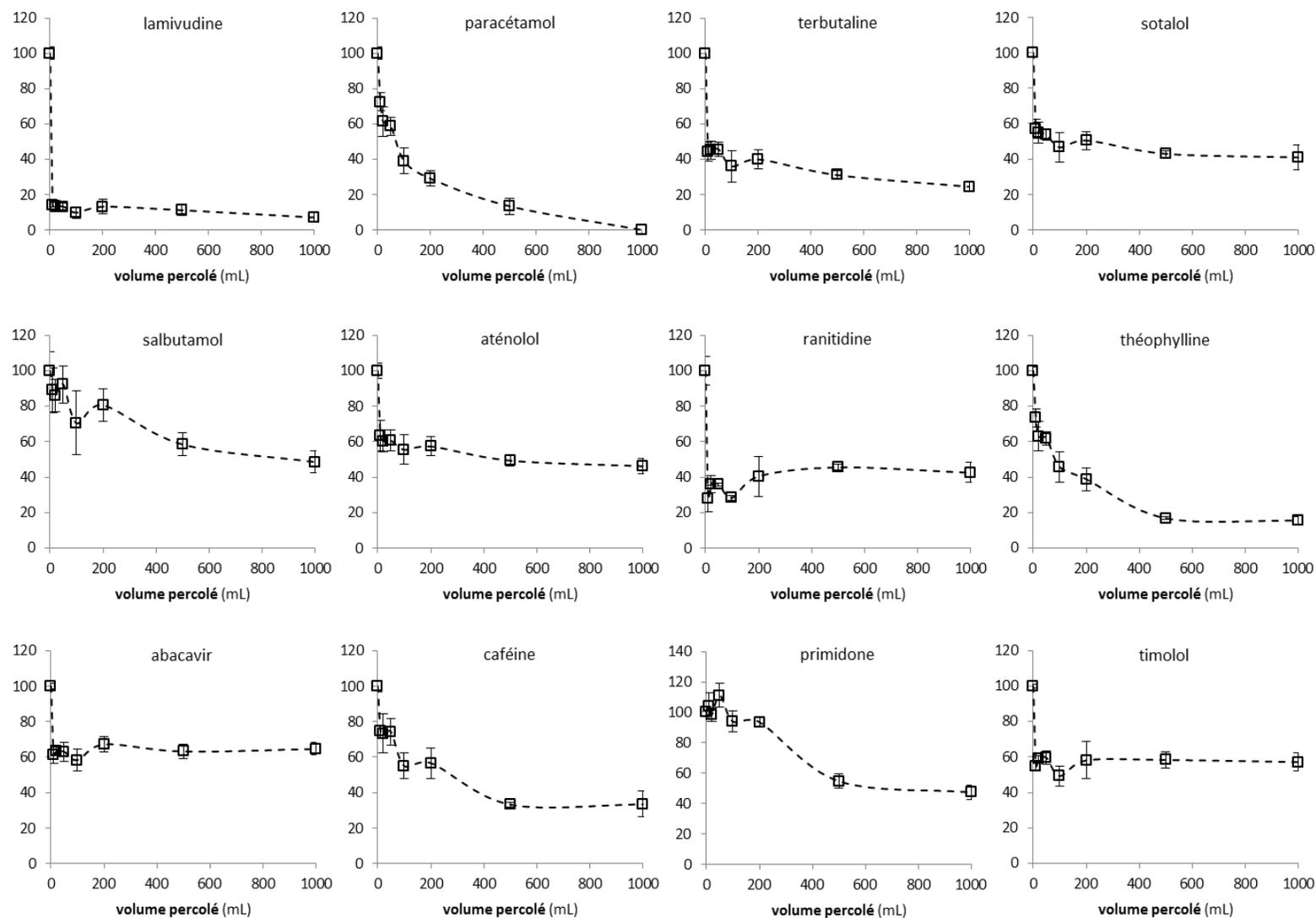
Annexe 9. Guide de lecture des boîtes à moustache.

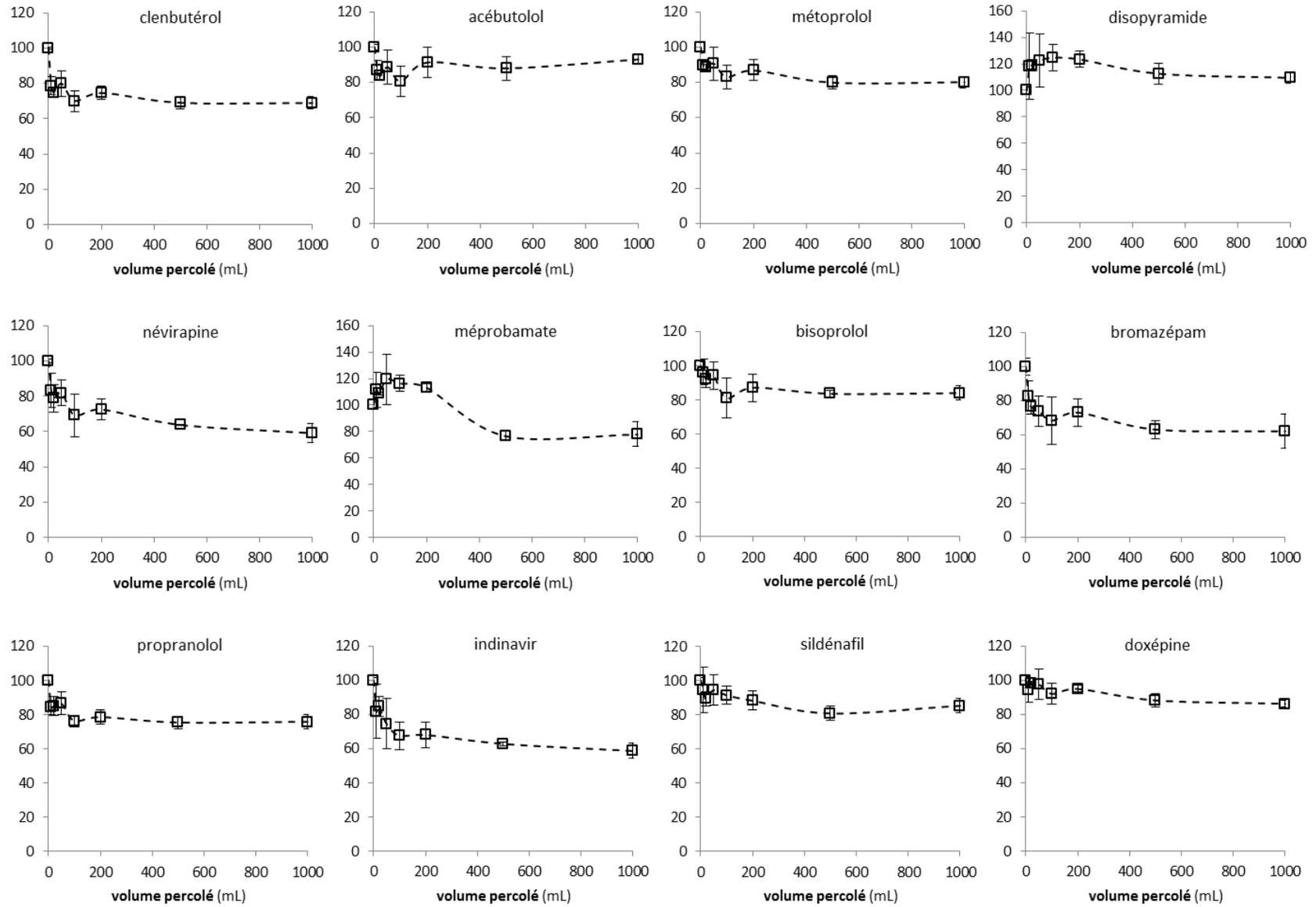
L'espace interquartile (*EIQ*) est égal à $Q3 - Q1$.

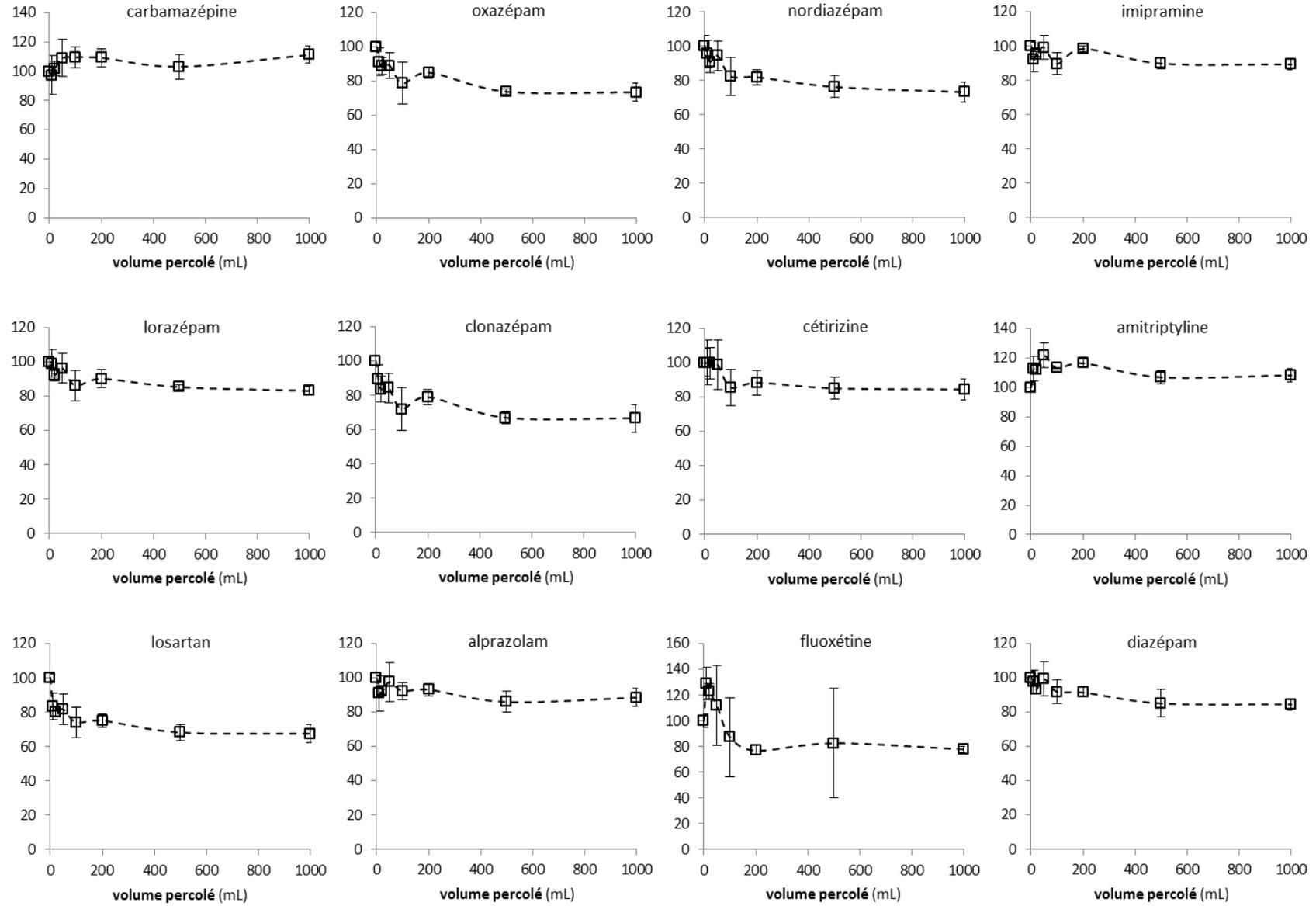
Les valeurs inférieures et supérieures sont comprises dans les limites inférieures et supérieures définies par : $val. inf. > lim. inf. = Q1 - 1,5 \cdot EIQ$ et $val. sup. < lim. sup. = Q3 + 1,5 \cdot EIQ$

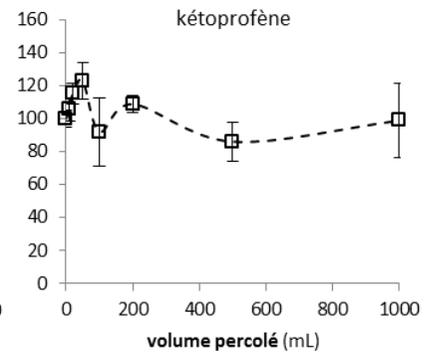
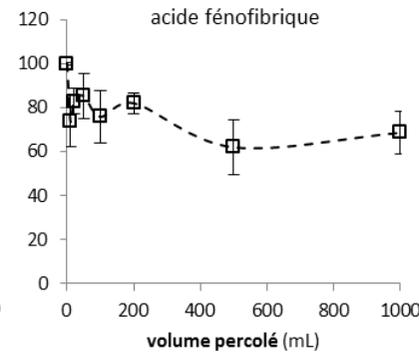
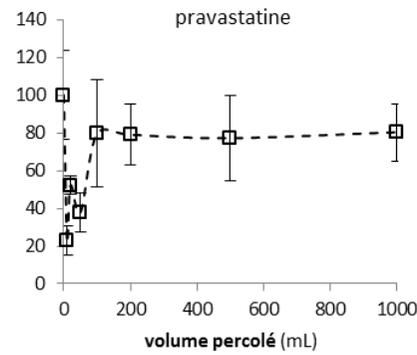
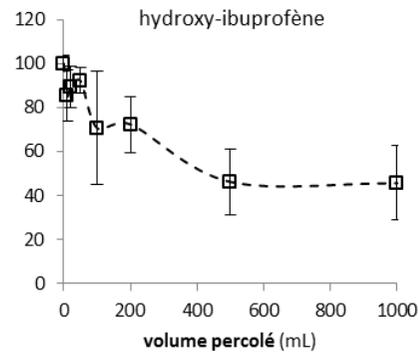
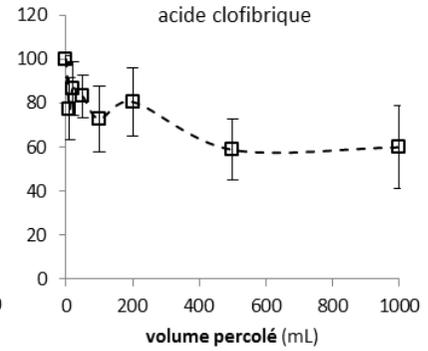
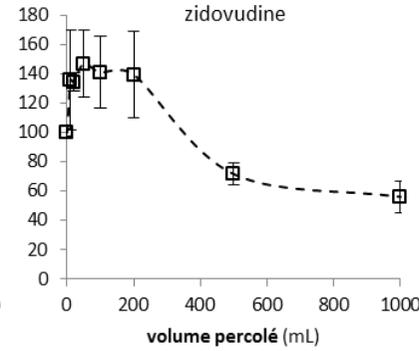
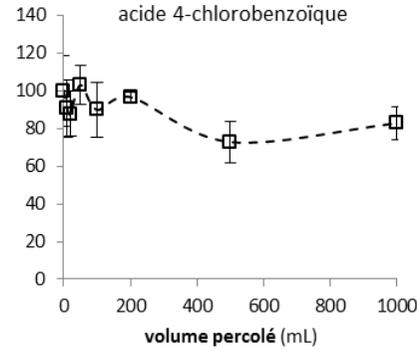
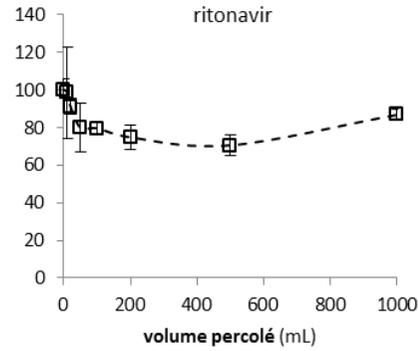
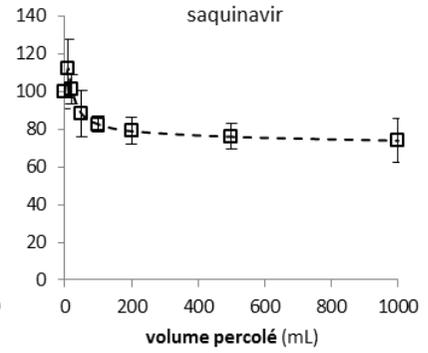
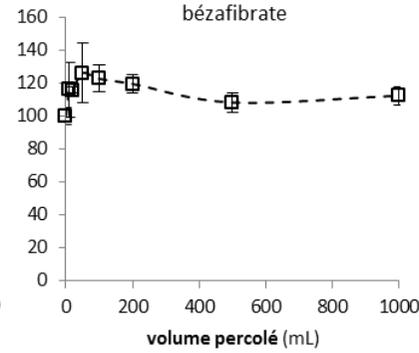
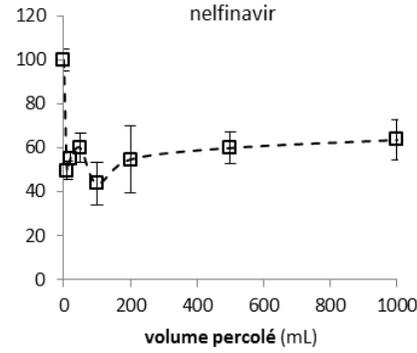
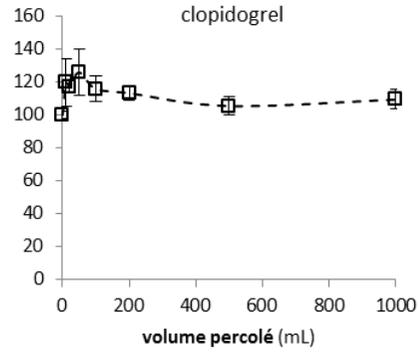
Au-delà de ces valeurs, les données sont considérées comme extrêmes et sont représentées individuellement par des points.

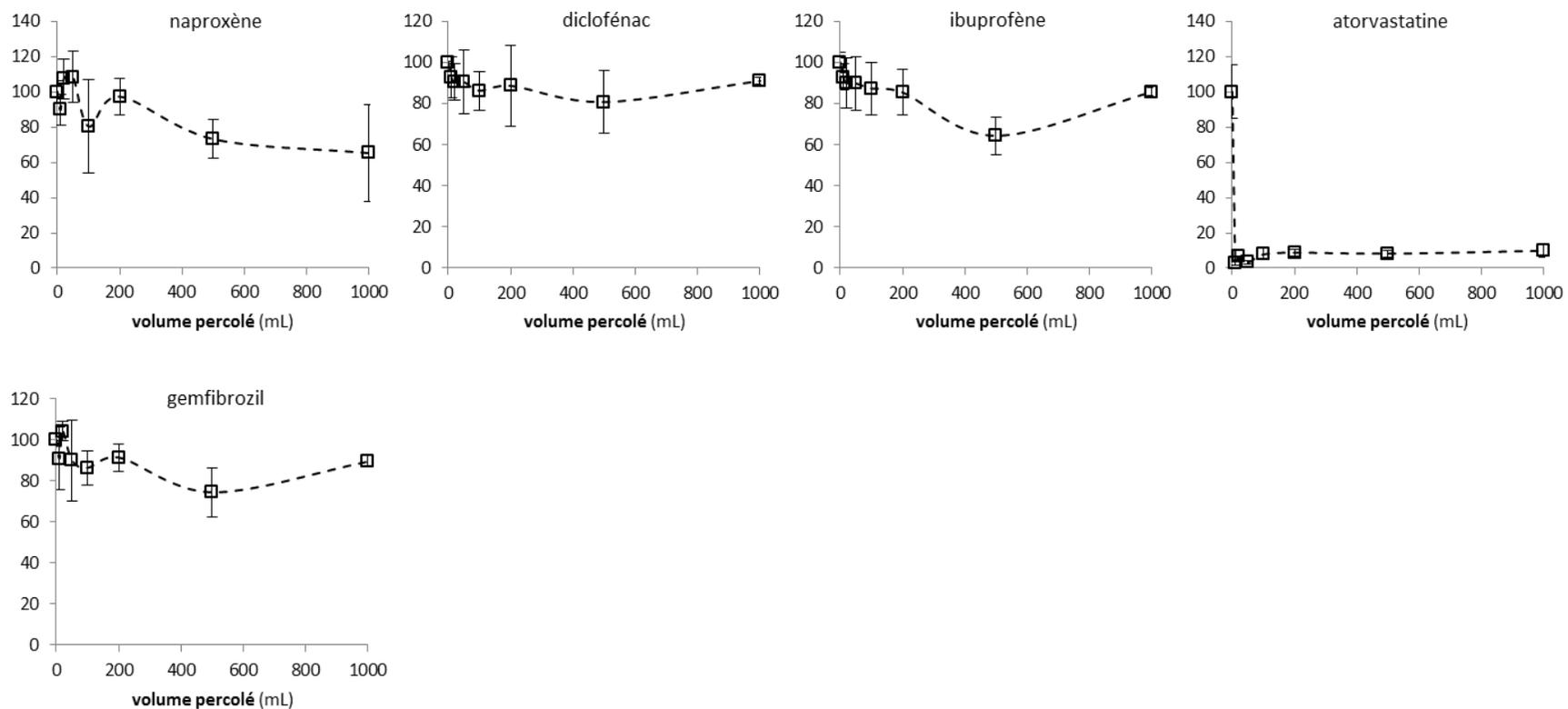
Annexe 10. Comportement des analytes lors du test de volume de fuite.

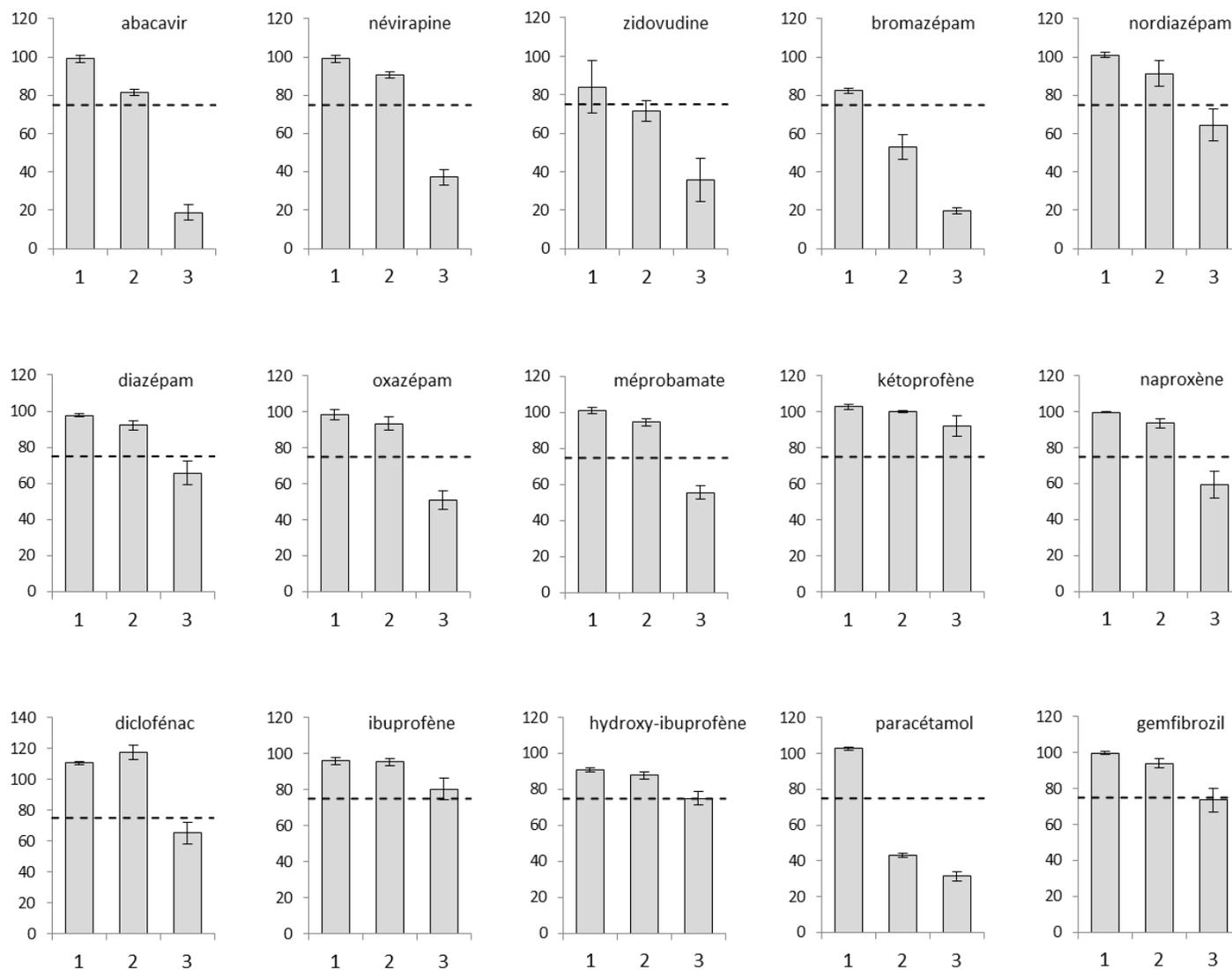


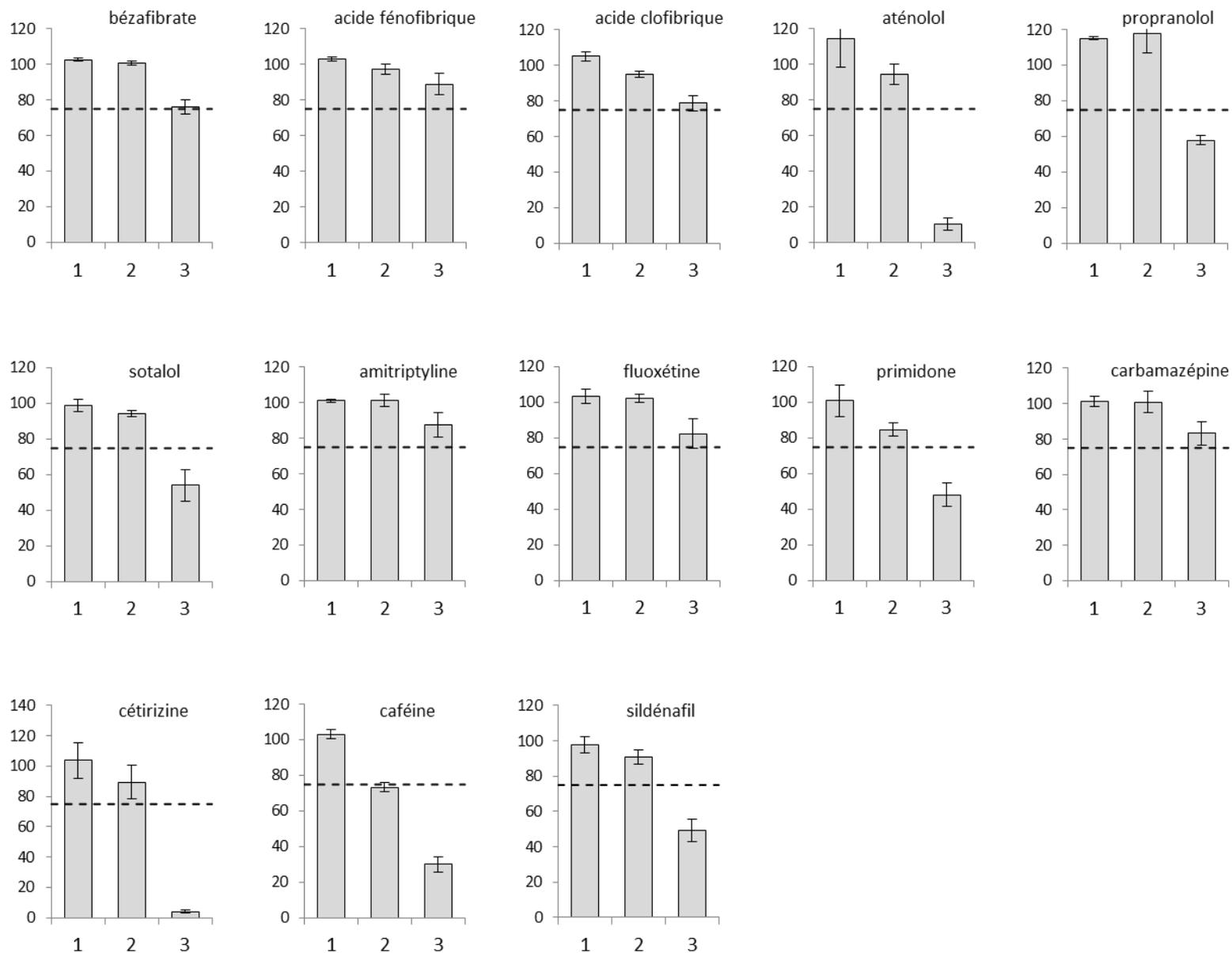




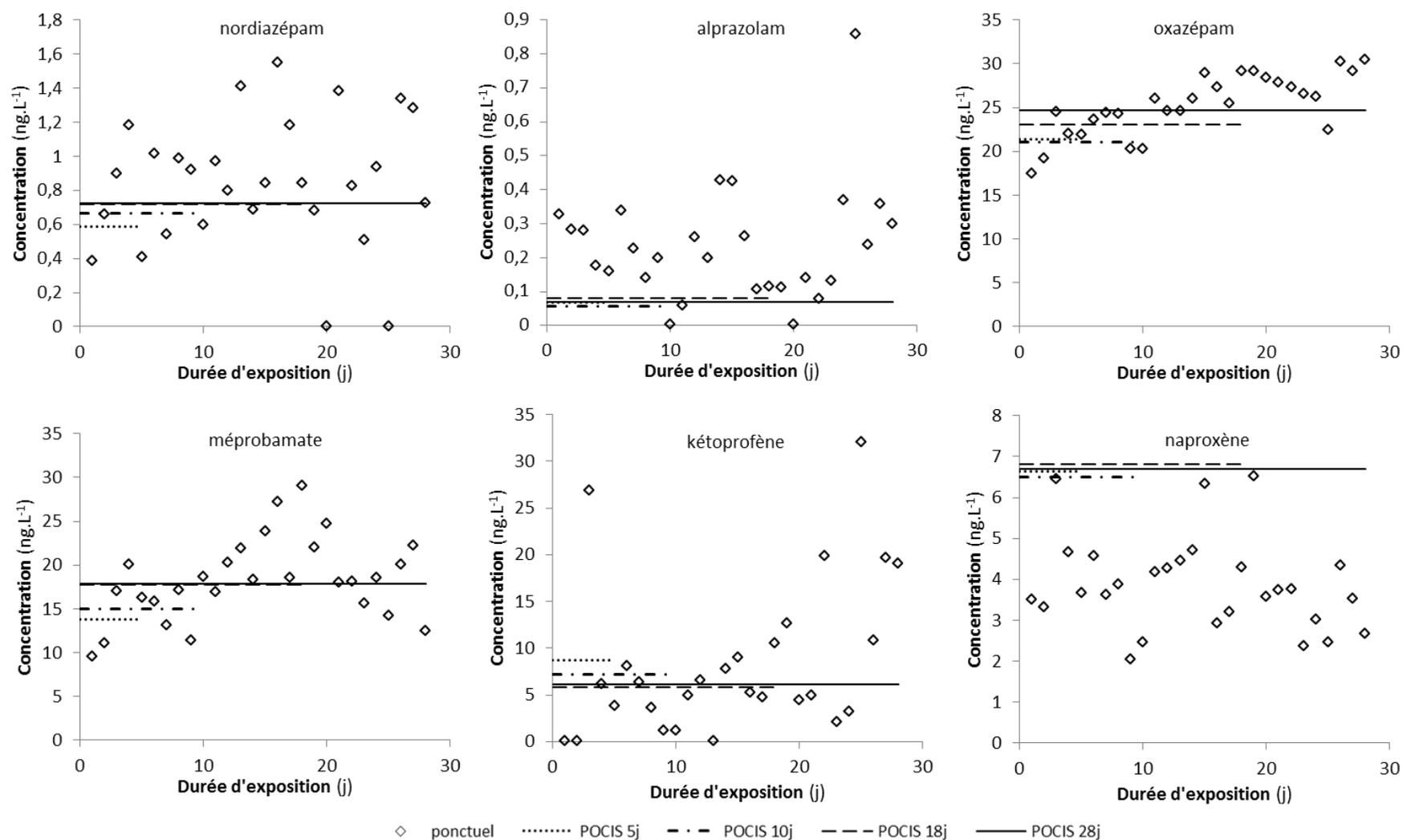


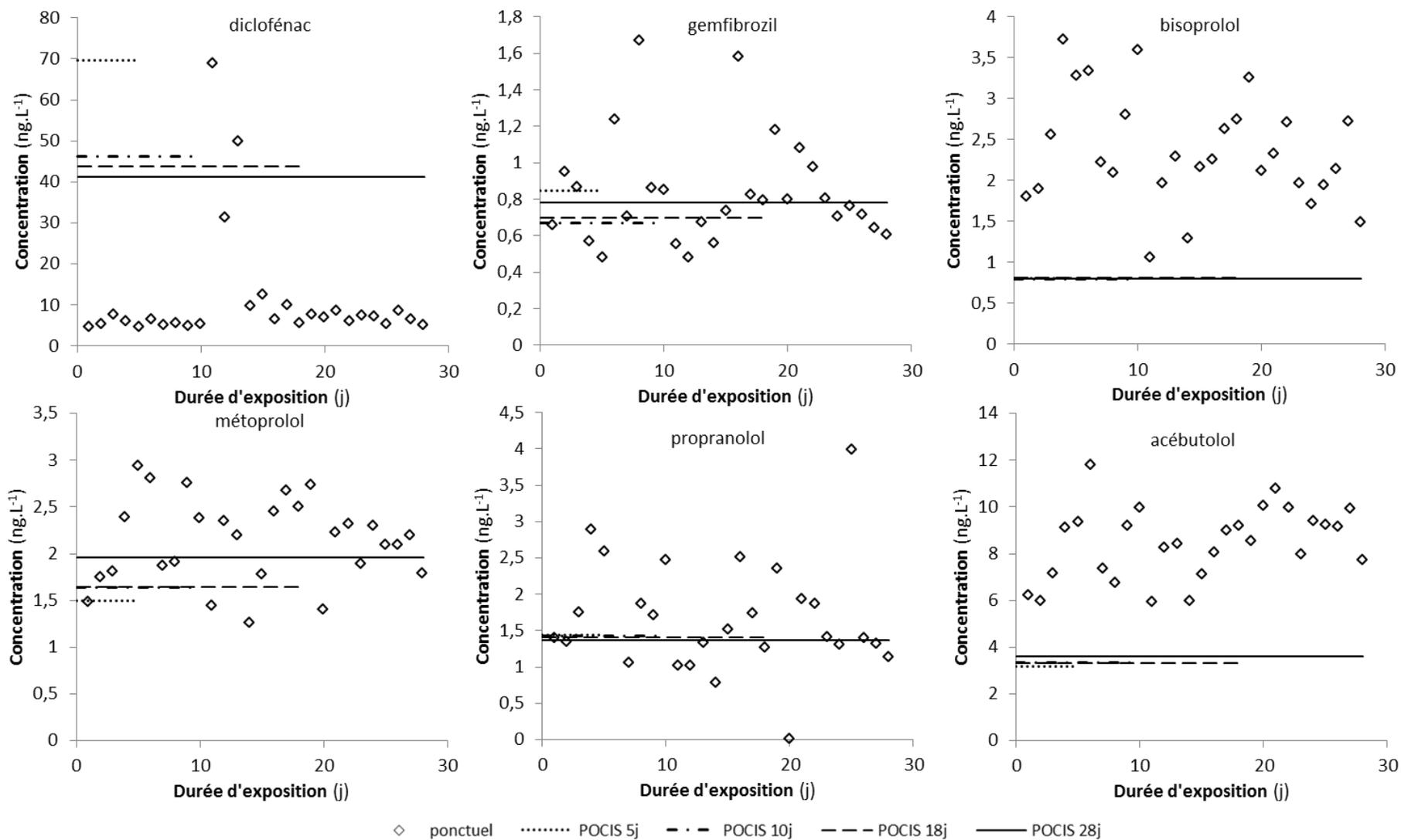


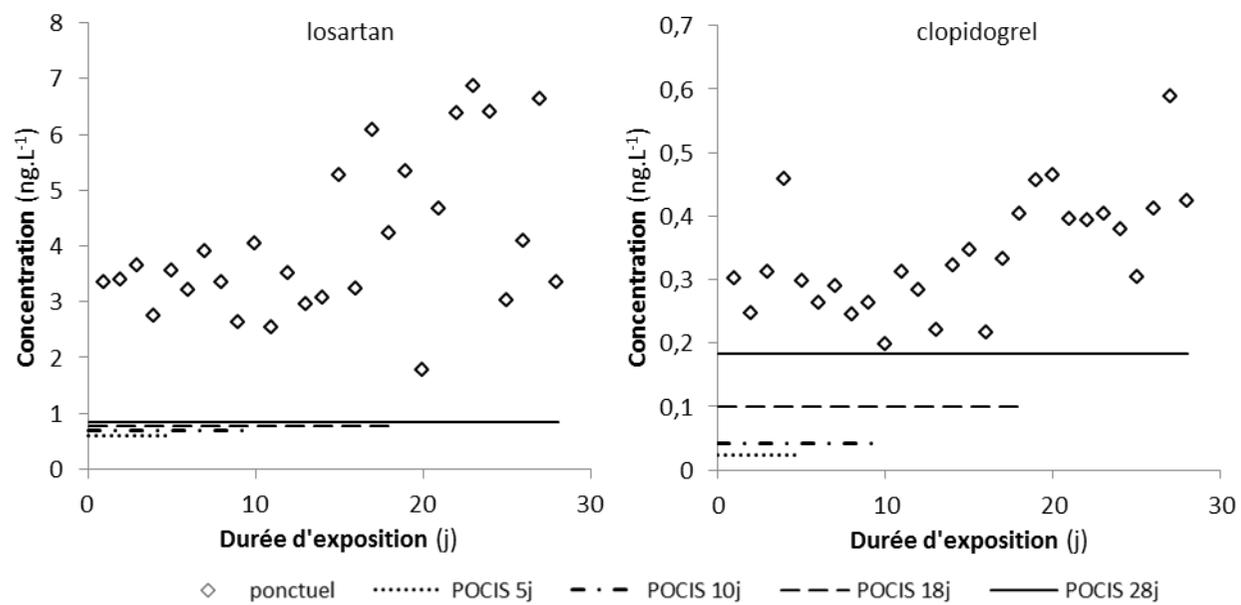
Annexe 11. Comportement des analytes lors de l'évaluation des pertes dues aux étapes préparatives.



Annexe 12. Adéquation des concentrations équivalentes mesurées par POCIS et des concentrations mesurées dans l'eau lors de la validation POCIS *in-situ*.





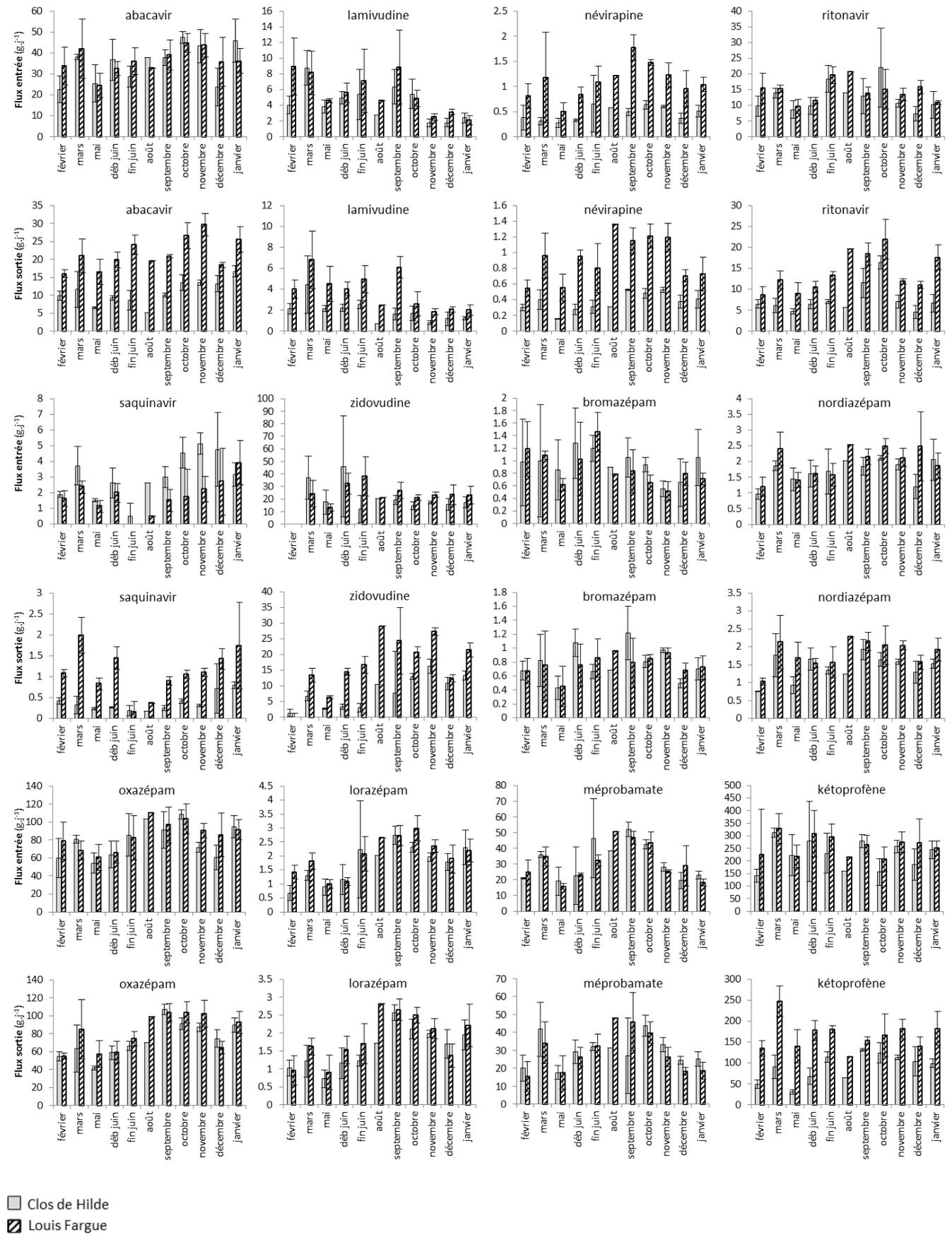


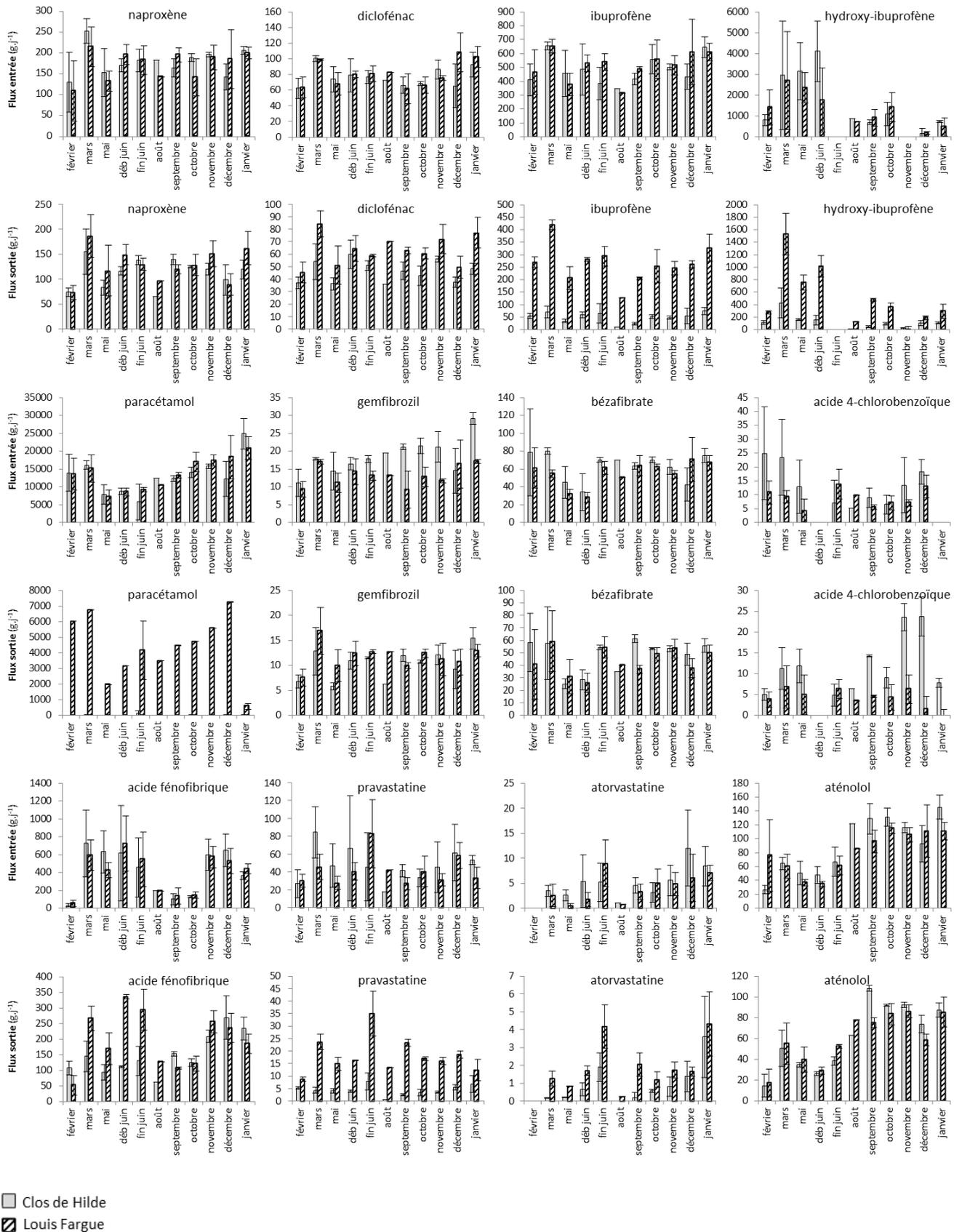
Annexe 13. Valeurs numériques des concentrations (ng.L⁻¹) mesurées lors du suivi annuel des STEP.

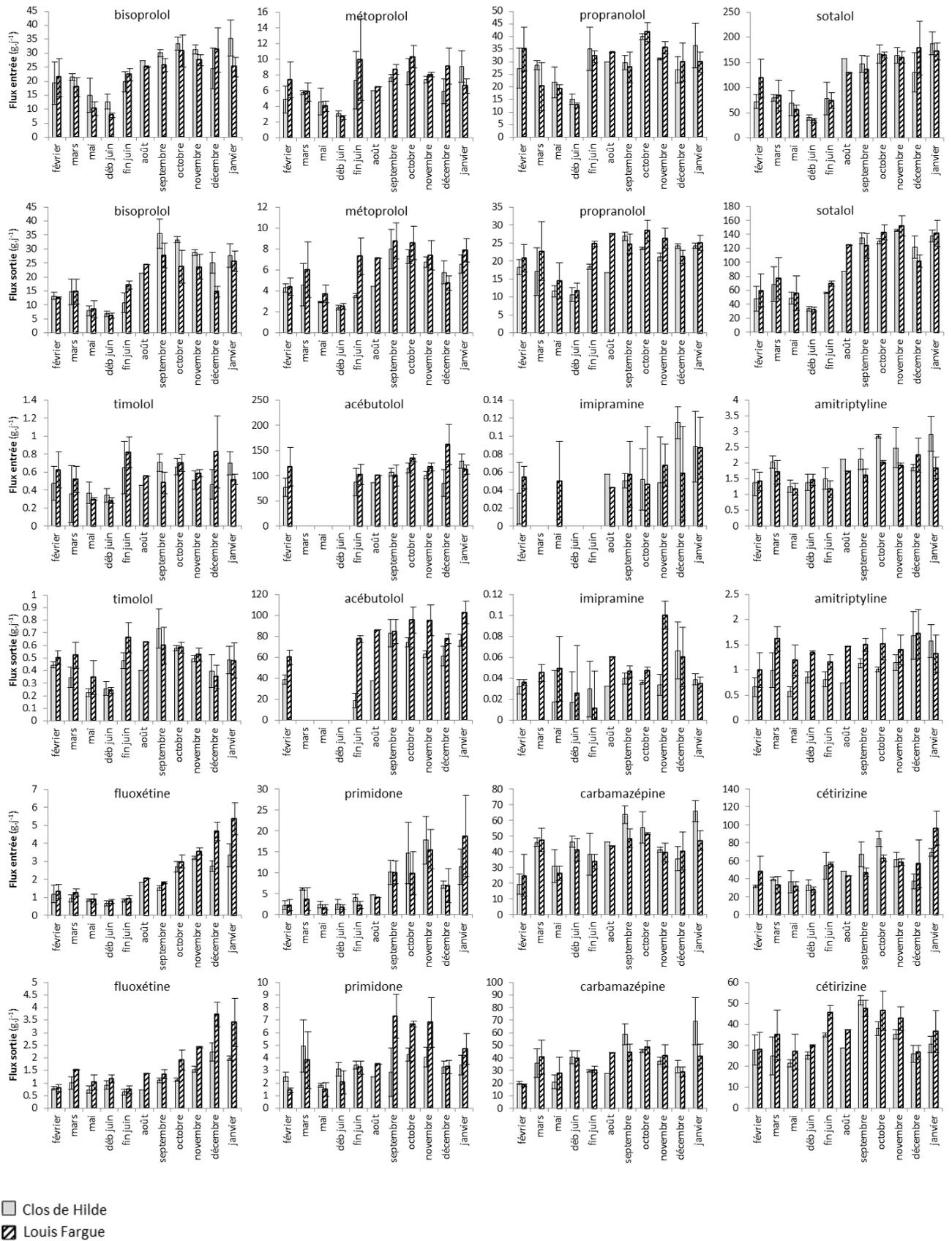
Analyte	CHE			LFE			CHET2			LFET			LFED		
	moyenne ± écart-type	1er quartile	3ème quartile												
abacavir	561 ± 204	438	706	425 ± 169	296	582	179 ± 56	140	210	192 ± 98	118	236	439 ± 191	350	573
indinavir	6 ± 6	1	11	8 ± 4	5	11	5 ± 3	2	6	7 ± 4	4	11	10 ± 4	7	12
lamivudine	71 ± 44	31	89	67 ± 48	26	83	30 ± 21	15	40	40 ± 25	23	55	72 ± 46	43	92
nelfinavir	1 ± 1	1	2	9 ± 26	1	1	1 ± 1	1	1	0 ± 0	0	0	2 ± 3	1	1
névirapine	7 ± 4	5	9	13 ± 7	7	19	6 ± 2	4	8	12 ± 6	6	17	13 ± 6	8	18
ritonavir	203 ± 124	122	235	168 ± 79	97	198	128 ± 81	83	143	166 ± 101	101	204	195 ± 92	136	287
saquinavir	53 ± 26	30	75	21 ± 11	13	27	7 ± 6	4	8	10 ± 5	6	12	21 ± 10	13	26
zidovudine	656 ± 1622	214	449	301 ± 168	197	330	153 ± 98	66	233	196 ± 133	84	309	361 ± 199	189	484
bromazépam	16 ± 7	10	21	11 ± 6	6	12	13 ± 5	8	17	10 ± 4	7	13	11 ± 5	7	14
nordiazépam	28 ± 10	20	36	23 ± 9	16	31	24 ± 8	17	31	23 ± 9	14	30	24 ± 9	18	31
alprazolam	5 ± 1	4	5	ND	ND	ND	4 ± 1	2	5	3 ± 2	2	4	ND	ND	ND
diazépam	4 ± 2	2	5	4 ± 2	3	6	3 ± 1	2	3	3 ± 2	2	4	4 ± 2	2	5
oxazépam	1263 ± 467	903	1478	986 ± 399	683	1246	1205 ± 393	926	1510	1053 ± 442	657	1502	1044 ± 439	778	1413
lorazépam	29 ± 16	19	36	24 ± 12	14	34	26 ± 11	19	35	24 ± 12	15	34	24 ± 15	12	37
clonazépam	ND	ND	ND												
méprobamate	526 ± 295	314	753	366 ± 200	211	474	484 ± 232	284	657	389 ± 218	166	598	396 ± 236	221	590
kétoprofène	3623 ± 1215	2560	4585	3016 ± 1185	2105	3756	1528 ± 668	975	2033	1576 ± 696	1149	2104	3036 ± 1076	2622	3803
naproxène	2860 ± 827	2346	3414	1993 ± 755	1457	2463	1840 ± 639	1359	2326	1357 ± 579	1107	1794	2070 ± 796	1689	2602
diclofénac	1221 ± 320	1009	1463	901 ± 247	707	1063	746 ± 245	581	971	747 ± 259	554	938	890 ± 319	860	1055
ibuprofène	7600 ± 2302	5632	9183	5944 ± 2029	4574	7523	862 ± 438	619	1086	1663 ± 977	1087	2230	6375 ± 2455	5491	8067
hydroxy- ibuprofène	30362 ± 27680	9215	53306	17955 ± 14236	6273	26687	2035 ± 2017	984	2312	3075 ± 2928	688	3869	16088 ± 13408	6110	20899
paracétamol	204505 ± 66272	162291	263246	152347 ± 61679	119144	197622	1733 ± 3026	252	708	2688 ± 1631	1743	3516	161550 ± 74867	109905	213104
gemfibrozil	297 ± 92	249	361	149 ± 46	110	182	172 ± 56	121	215	134 ± 52	89	173	176 ± 62	154	231
bézafrate	988 ± 366	755	1244	634 ± 253	421	834	791 ± 282	544	1031	487 ± 201	345	641	679 ± 318	376	908
ac-4- chlorobenzoiq acide- féno fibriq acide- clofibriq pravastatine	212 ± 144	107	259	108 ± 56	76	120	194 ± 113	106	233	50 ± 21	36	67	109 ± 54	78	130
acide- féno fibriq	6858 ± 4985	2844	10047	4589 ± 3274	2031	6020	2584 ± 869	2074	3211	1621 ± 688	1412	1785	4132 ± 3385	1394	5715
acide- clofibriq	ND	ND	ND												
pravastatine	976 ± 1206	453	1126	501 ± 343	316	588	75 ± 43	49	90	147 ± 103	83	190	431 ± 319	239	546
atorvastatine	144 ± 357	44	112	55 ± 47	23	67	21 ± 22	7	26	18 ± 19	7	25	51 ± 46	13	79
aténolol	1435 ± 688	884	1955	924 ± 447	549	1333	1036 ± 519	660	1558	698 ± 338	418	945	875 ± 532	358	1396
bisoprolol	389 ± 144	306	509	255 ± 122	167	356	346 ± 179	225	477	207 ± 128	86	336	268 ± 143	136	395
métoprolol	102 ± 41	79	126	85 ± 50	54	104	86 ± 35	60	107	79 ± 42	39	116	82 ± 43	48	120
propranolol	466 ± 166	344	528	337 ± 159	197	470	322 ± 92	257	389	262 ± 106	164	358	347 ± 158	219	476
sotalol	1838 ± 855	1122	2527	1326 ± 638	735	1840	1554 ± 692	1083	2056	1192 ± 627	768	1766	1319 ± 772	651	2176

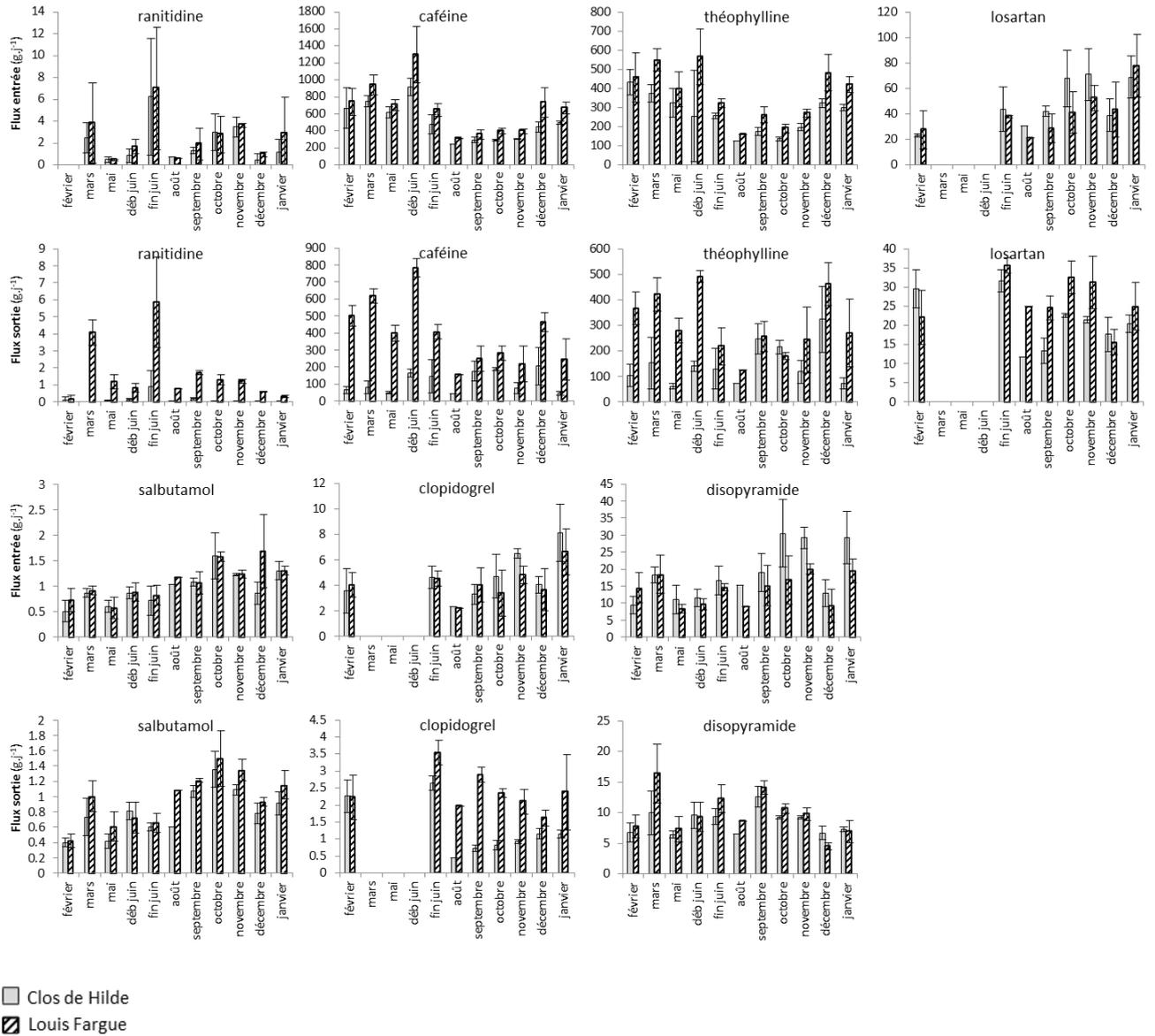
Analyte	CHE			LFE			CHET2			LFET			LFED		
	moyenne ± écart-type	1er quartile	3ème quartile												
timolol	8 ± 4	7	10	7 ± 3	4	9	7 ± 3	5	9	6 ± 3	4	9	7 ± 3	4	9
acébutolol	1556 ± 456	1231	1893	1325 ± 456	962	1597	922 ± 359	651	1082	949 ± 350	600	1233	1310 ± 546	1016	1703
imipramine	1 ± 0	1	2	1 ± 0	1	1	1 ± 0	1	1	1 ± 0	0	1	1 ± 1	1	1
doxépine	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5	5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
amitriptyline	31 ± 11	22	39	19 ± 6	14	23	17 ± 5	14	21	17 ± 5	13	21	18 ± 6	14	23
fluoxétine	28 ± 15	14	38	24 ± 14	13	37	20 ± 6	15	24	20 ± 8	16	23	19 ± 10	10	25
primidone	124 ± 100	56	150	78 ± 72	22	109	54 ± 22	36	69	42 ± 22	25	54	80 ± 76	20	134
carbamazépine	710 ± 260	558	890	470 ± 179	367	586	634 ± 230	436	754	459 ± 201	284	632	495 ± 199	355	676
cétirizine	830 ± 375	493	1076	585 ± 238	387	767	510 ± 193	359	693	445 ± 191	265	615	568 ± 292	414	799
ranitidine	35 ± 46	7	44	34 ± 42	6	46	5 ± 9	1	4	20 ± 28	3	24	34 ± 35	8	44
clenbuterol	ND	ND	ND												
caféine	7915 ± 3445	5309	10656	7536 ± 3265	4931	9730	1948 ± 1327	923	2965	3138 ± 1467	1836	4501	7972 ± 3764	4956	10688
théophylline	5604 ± 7810	3206	5387	4226 ± 1480	3112	5525	2499 ± 1509	1217	3578	2909 ± 1220	1863	3518	4719 ± 2177	3279	5593
sildénafil	4 ± 3	3	5	3 ± 1	2	3	4 ± 2	2	5	3 ± 1	2	4	4 ± 1	3	4
losartan	780 ± 382	588	934	457 ± 222	264	609	340 ± 161	215	455	292 ± 155	157	424	487 ± 277	340	685
salbutamol	16 ± 7	11	20	12 ± 5	9	16	13 ± 6	9	15	12 ± 6	7	18	13 ± 7	8	16
clopidogrel	73 ± 29	51	94	48 ± 21	33	66	20 ± 14	12	20	25 ± 14	15	29	45 ± 24	35	59
terbutaline	6 ± 3	5	7	5 ± 1	5	6	3 ± 1	3	4	ND	ND	ND	ND	3	3
disopyramide	298 ± 152	188	381	167 ± 82	110	238	138 ± 50	94	180	109 ± 50	68	131	181 ± 111	121	241

Annexe 14. Evolution annuelle des flux ($g.j^{-1}$) en entrée et en sortie des STEP.









Annexe 15. Valeurs numériques des concentrations mesurées lors du suivi de la Jalle de Blanquefort.

Analyte	Concentration dans l'eau (ng.L ⁻¹)						Concentration dans les particules (ng.g ⁻¹)						Concentration dans le sédiment (ng.g ⁻¹)			
	effluent STEP		Amont		Aval moyen n=5		effluent STEP		Amont		Aval moyen n=5		effluent STEP		Amont	
	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12
abacavir	33	31	nd	0,7	0,8 ± 0,4	2,6 ± 1,7	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,1 ± 0	nd
indinavir	1,5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
lamivudine	6,5	44	nd	nd	nd	4,1 ± 2,5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nelfinavir	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,6	0,3	0,3 ± 0,2	nd	nd	nd	nd	0,2 ± 0,1
névirapine	3,0	7,7	nd	nd	0,4 ± 0,1	1,3 ± 0,6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
ritonavir	53	155	nd	0,2	2 ± 1	12 ± 5	1372	588	16	9,9	55 ± 22	59 ± 31	nd	0,2	1 ± 1,3	1,4 ± 1,9
saquinavir	0,2	nd	nd	nd	nd	nd	4,0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
zidovudine	191	154	nd	nd	nd	33 ± 27	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
bromazépam	6,8	9,2	nd	nd	nd	1,1 ± 0,8	70	12	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nordiazépam	13	21	0,3	0,4	1,9 ± 0,3	3 ± 0,9	nd	7,5	nd	nd	0,2 ± 0,2	nd	nd	nd	nd	0,2 ± 0,2
alprazolam	3,9	4,3	nd	nd	0,3 ± 0,5	0,7 ± 0,2	nd	1,5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
diazépam	1,0	2,6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
oxazépam	895	1410	21	28	129 ± 20	206 ± 63	292	399	4,0	13	30 ± 15	61 ± 51	nd	3,6	12 ± 3,3	9,7 ± 7,6
lorazépam	21	54	nd	24	6,1 ± 1	25 ± 6	nd	21	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
clonazépam	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
méprobamate	306	155	47	67	59 ± 6	74 ± 11	50	27	nd	nd	6,1 ± 6,2	7,4 ± 7,6	nd	nd	0,5 ± 0,4	0,7 ± 0,4
kétoprofène	567	422	16	7,7	33 ± 18	28 ± 13	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
naproxène	791	573	6,2	8,9	35 ± 27	60 ± 32	141	29	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
diclofénac	785	906	20	19	78 ± 14	98 ± 47	308	353	nd	nd	nd	52 ± 55	nd	nd	0,9 ± 0,9	2 ± 2,9
ibuprofène	460	131	8,4	4,1	14 ± 10	10 ± 7	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2-hydroxy-ibuprofène	2409	977	12	24	99 ± 102	171 ± 89	797	132	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
paracétamol	863	nd	146	nd	99 ± 56	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
gemfibrozil	39	41	0,9	0,3	2,1 ± 1,1	6,1 ± 3,6	9,1	16	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
bézafrate	496	341	11	9,3	34 ± 12	48 ± 15	81	50	nd	nd	1,7 ± 1,8	7,8 ± 7,9	nd	nd	nd	nd
ac. 4-chlorobenz.	32	35	5,5	nd	15 ± 2	88 ± 170	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
ac. fénofibrique	1954	2620	8,1	0,5	79 ± 52	82 ± 75	616	492	nd	nd	10 ± 12	18 ± 24	nd	0,3	nd	0,9 ± 1,4
ac. clofibrique	nd	nd	8	11	5,8 ± 0,6	9,3 ± 1,1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
pravastatine	86	140	nd	nd	3,5 ± 3,6	8,8 ± 6,5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
atorvastatine	5,7	4,4	nd	nd	nd	nd	59	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
aténolol	819	654	9,4	4,5	81 ± 23	82 ± 27	152	102	nd	nd	4,4 ± 6,6	nd	nd	nd	nd	nd
bisoprolol	328	359	3,3	2,9	29 ± 11	45 ± 14	42	68	1,6	1,9	7,6 ± 3,6	14 ± 12	nd	1,1	1,2 ± 0,8	3,5 ± 3,9
metoprolol	117	172	2,4	2,9	17 ± 3	24 ± 8	21	34	nd	nd	5,3 ± 2,1	7,3 ± 7,0	nd	1,0	1,2 ± 0,8	1,7 ± 1,8
propranolol	370	646	7,8	6,4	66 ± 13	76 ± 36	285	502	19	37	160 ± 70	148 ± 125	0,15	10,0	28 ± 21	50 ± 59
sotalol	1767	2931	37	51	199 ± 27	438 ± 142	178	605	nd	nd	28 ± 13	80 ± 68	nd	2,7	3,9 ± 2,7	7,4 ± 8,2
timolol	11	16	0,2	nd	1,2 ± 0,3	1,9 ± 0,6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
acébutolol	445	420	9,5	7,5	60 ± 19	60 ± 18	112	66	6,7	10	36 ± 14	35 ± 28	0,10	2,6	7,8 ± 5,8	9,3 ± 8,7
imipramine	1,3	1,8	0,2	nd	0,3 ± 0,3	0,3 ± 0,2	4,7	8,4	nd	nd	1,0 ± 0,4	1,3 ± 1,3	nd	0,1	0,2 ± 0,2	0,3 ± 0,2
doxépine	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
amitriptyline	18	25	nd	nd	2 ± 0,8	2,5 ± 1,6	50	192	2,3	5,3	23 ± 9	21 ± 16	nd	0,9	3,8 ± 3,8	7,2 ± 8,2

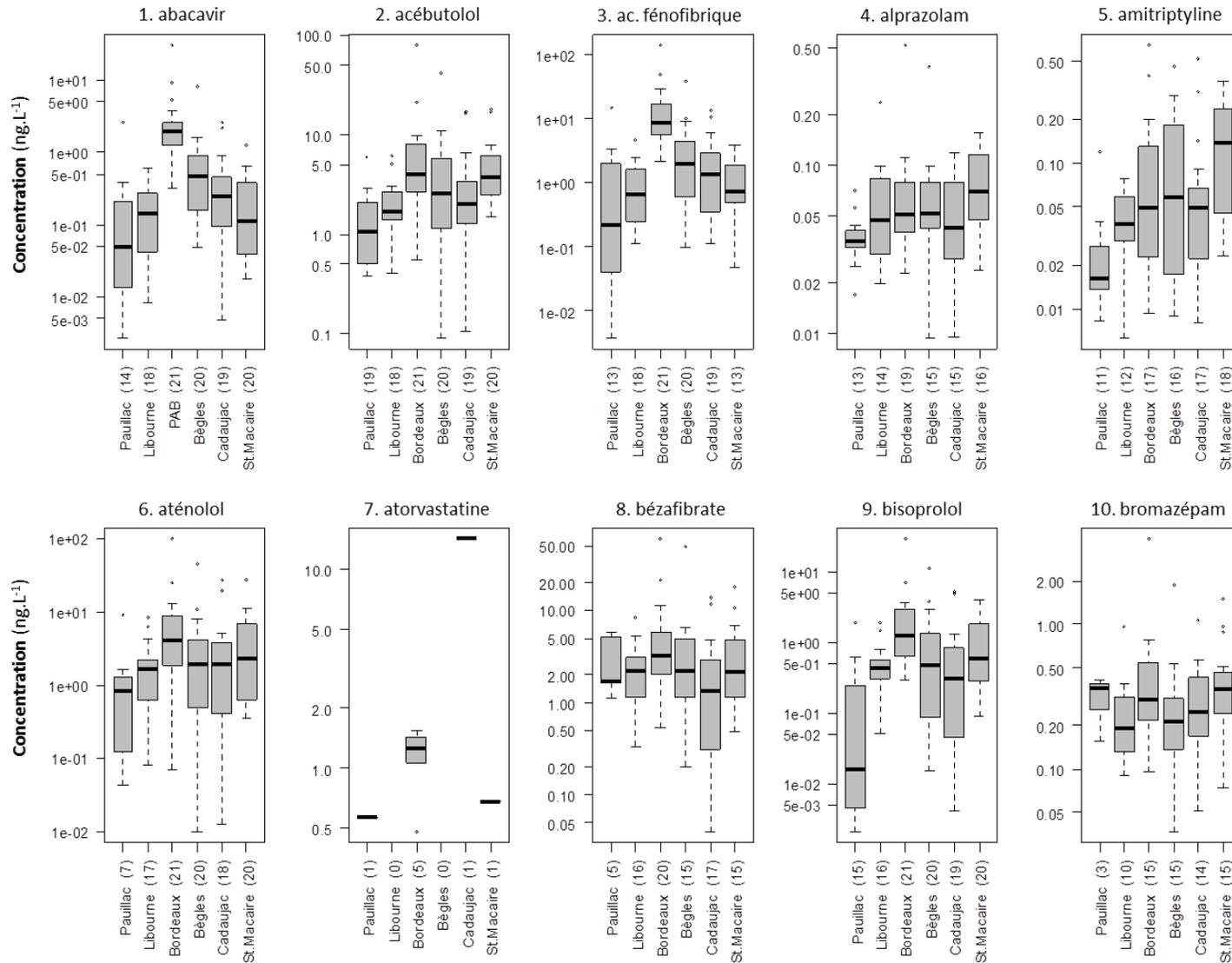
Analyte	Concentration dans l'eau (ng.L ⁻¹)						Concentration dans les particules (ng.g ⁻¹)						Concentration dans le sédiment (ng.g ⁻¹)			
	effluent STEP		Amont		Aval moyen n=5		effluent STEP		Amont		Aval moyen n=5		effluent STEP		Amont	
	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12	déc-11	juil-12
fluoxétine	14	18	nd	nd	1,7 ± 0,7	1,9 ± 1,2	98	163	4,9	2,6	31 ± 11	33 ± 32	nd	0,8	5,6 ± 4,9	10 ± 11
primidone	56	190	nd	9,7	5 ± 1,3	39 ± 17	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
carbamazépine	533	817	8,4	16	73 ± 11	151 ± 49	107	155	2,5	2,9	7,4 ± 3,2	19 ± 18	nd	1,3	2 ± 1,6	2,7 ± 2,6
cétirizine	434,1	465,1	12	11	53 ± 8	73 ± 19	130	135	5,4	5,9	22 ± 9	26 ± 23	nd	1,5	1,4 ± 1,5	7,3 ± 7,9
ranitidine	7,6	9,3	nd	1,4	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,4	nd	33	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
clenbuterol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
caféine	1858	233	76	54	122 ± 86	99 ± 51	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,1	nd	17 ± 27
théophylline	4672	881	28	46	78 ± 55	166 ± 108	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	4,1 ± 2,3
sildénafil	3,9	4,9	nd	nd	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,6	nd	14	nd	nd	1,5 ± 1,1	nd	nd	0,2	0,9 ± 0,5	1,3 ± 1
losartan	127	202	3	1,4	24 ± 6	24 ± 8	3708	126	nd	nd	2,7 ± 2,6	nd	nd	nd	nd	nd
salbutamol	14	6,3	0,2	nd	1,2 ± 0,3	1,3 ± 0,2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
clopidogrel	13	18	0,5	0,4	2,6 ± 0,4	1,9 ± 0,8	9,1	21	nd	nd	1,2 ± 0,6	1,5 ± 1	nd	nd	0,1 ± 0,2	nd
terbutaline	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
disopyramide	241	493	3,3	6,2	23 ± 3	70 ± 32	84	277	3,3	6,3	19 ± 7	30 ± 20	nd	1,2	4 ± 3,4	6 ± 6,9

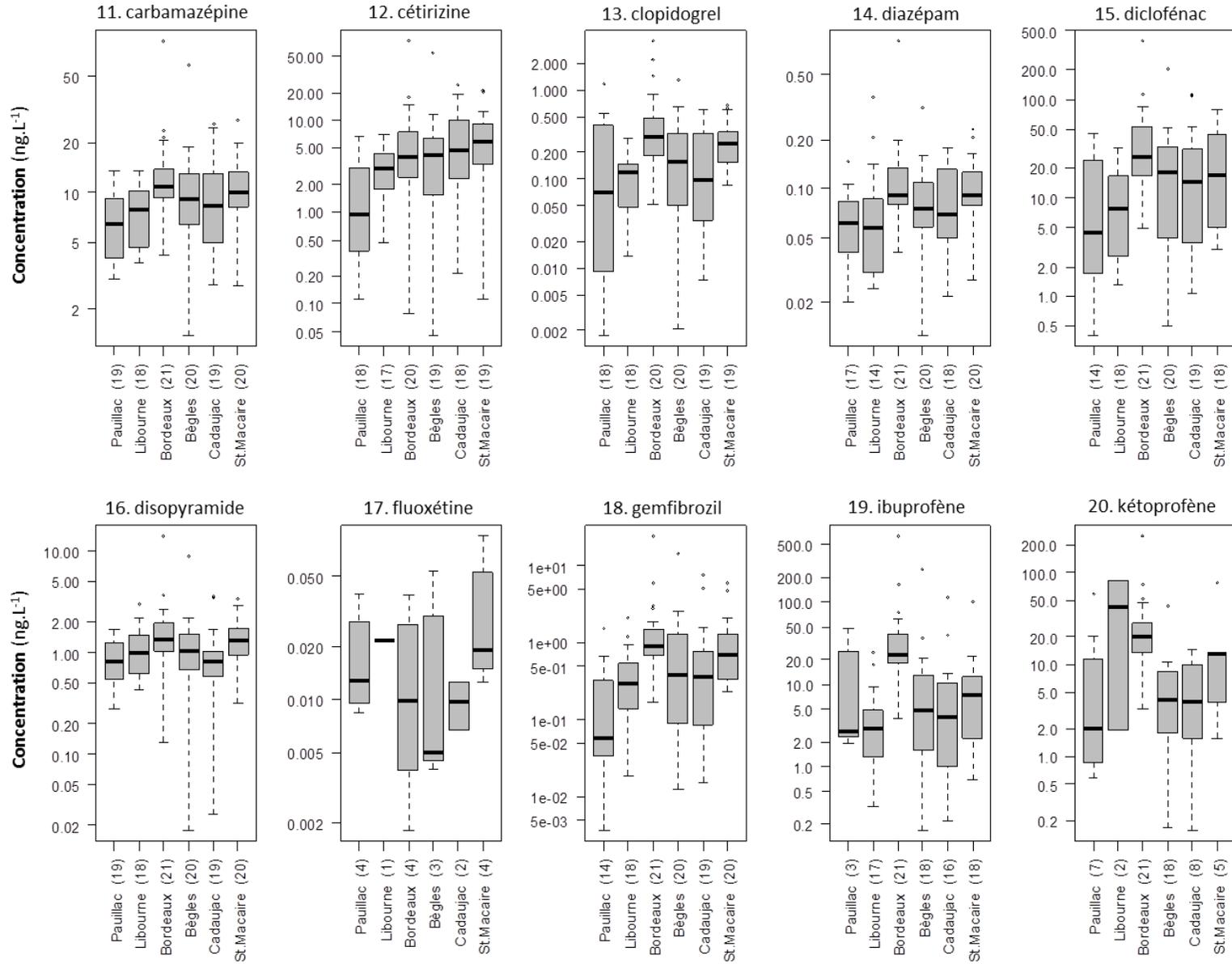
Annexe 16. Valeurs numériques des concentrations (ng.L⁻¹) mesurées lors du suivi de l'estuaire.

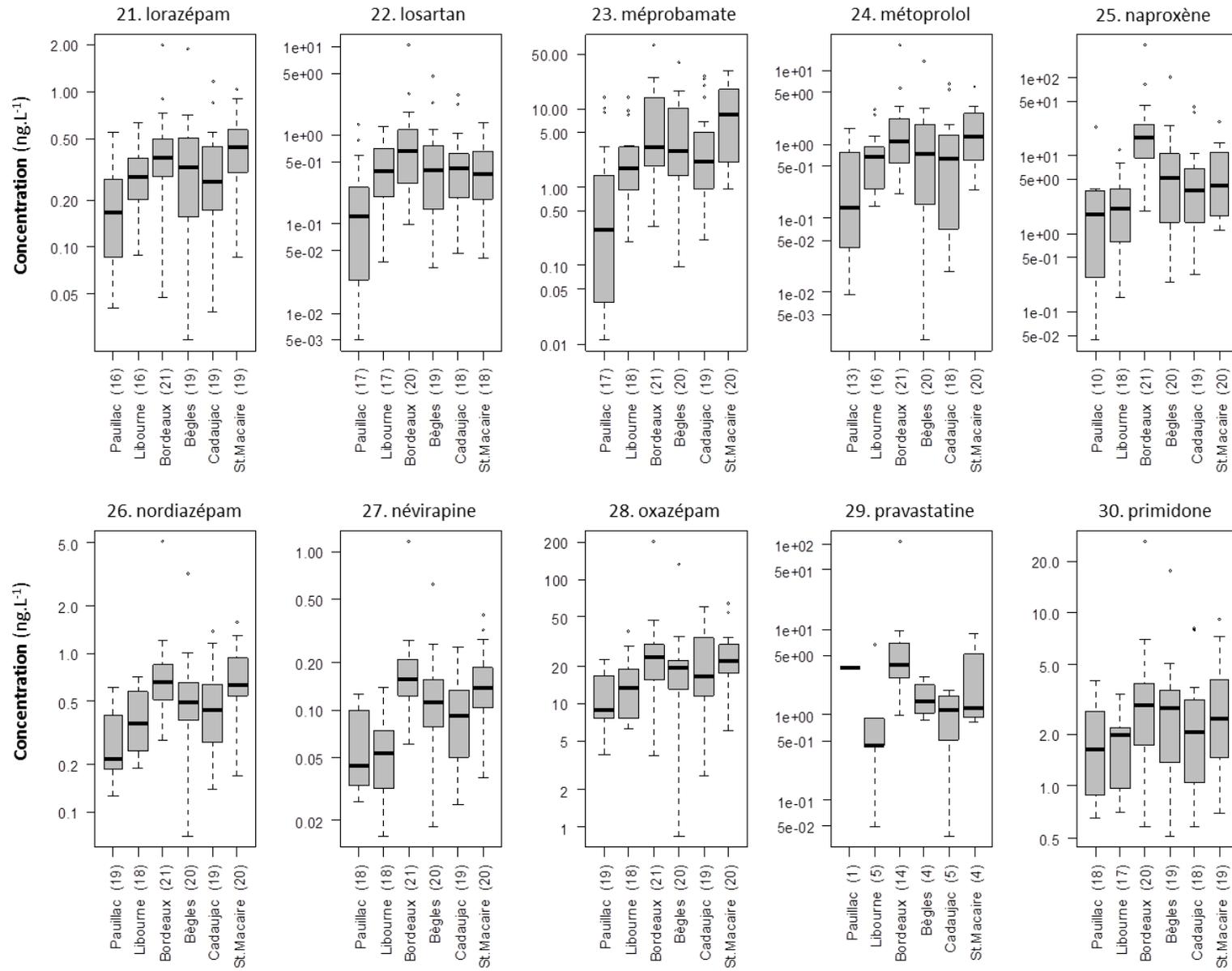
Analyte	Pauillac			Libourne			Bordeaux			Bègles			Cadaujac			St-Macaire		
	moyenne ± écart- type	1er quartile	3ème quartile															
abacavir	0,2 ± 0,1	0,1	0,3	0,2 ± 0,2	0,1	0,3	2,3 ± 1	1,5	2,9	0,7 ± 0,4	0,3	1,1	0,5 ± 0,4	0,2	0,8	0,3 ± 0,2	0,2	0,3
indinavir	ND	ND	ND	ND	0,4	0,4												
lamivudine	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2,6 ± 1,2	1,6	3,4	ND	1,0	1,0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
nelfinavir	ND	ND	ND															
névirapine	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,5 ± 0,4	0,3	0,7	ND	1,0	1,0	ND	0,2	0,2	ND	0,1	0,1
ritonavir	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,5 ± 0,2	0,4	0,5	0,2 ± 0,1	0,1	0,2	ND	0,1	0,1	0,4 ± 0,4	0,2	0,6
saquinavir	ND	ND	ND															
zidovudine	ND	ND	ND															
bromazépam	ND	ND	ND															
nor diazépam	0,3 ± 0	0,2	0,3	0,3 ± 0,2	0,2	0,3	0,6 ± 0,3	0,5	0,8	0,6 ± 0,3	0,3	0,8	0,5 ± 0,2	0,3	0,6	0,6 ± 0,3	0,4	1
alprazolam	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,1	0,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
diazépam	ND	ND	ND	ND	2,6	2,6	ND	ND	ND									
oxazépam	12 ± 4,5	9,8	15,8	12,5 ± 4,5	9,1	16,5	29,5 ± 9,4	26,9	34,7	23,8 ± 9	20,8	29,9	22,8 ± 8,5	18,4	27,9	21,5 ± 10,1	16,8	26,0
lorazépam	1,2 ± 0,2	1,1	1,3	5,9 ± 3,5	3,8	7,0	1,6 ± 0,5	1,3	1,8	1,4 ± 0,6	1,2	1,6	ND	1,3	1,3	2,3 ± 0,6	2,0	2,5
clonazépam	ND	ND	ND															
méprobamate	1,4 ± 0,8	0,8	2,0	1,3 ± 0,8	0,7	1,5	6,4 ± 6,1	2,0	8,0	4,8 ± 4,1	1,3	6,3	2,5 ± 1,7	1,0	4,3	5,6 ± 5,8	1,6	7,45
kétoprofène	38 ± 47,4	6,2	53,9	144,2 ± 264,9	27,7	73,9	ND	ND	ND	31,7 ± 37,4	7,0	35,8	50,1 ± 48,3	16,7	74,5	25,3 ± 12,1	14,0	35,6
naproxène	1,7 ± 1,3	1,2	2,5	2,1 ± 1,2	1,4	2,3	13,7 ± 7,8	8,0	17,0	4,1 ± 2,9	2,2	4,7	2,9 ± 2,9	1,1	4,4	3 ± 1,6	1,6	4
diclofénac	11,2 ± 8,6	4,8	18,6	7,7 ± 6,5	3,0	10,4	14,4 ± 5,7	11,0	18,4	11,3 ± 5,8	7,1	14,0	7,6 ± 5,3	4,8	10,6	8,6 ± 6,1	5,2	9,9
ibuprofène	ND	0,9	0,9	4,7 ± 2,9	2,4	6,8	27,6 ± 20,7	15,4	35,6	9,4 ± 7,4	5,1	11,1	8,6 ± 10,4	2,1	9,8	5,5 ± 2,6	3,8	6,8
hydroxy- ibuprofène	ND	2,6	2,6	10,6 ± 5,4	7,7	11,6	70,1 ± 46,2	32,0	104,3	18,6 ± 13,5	11,0	22,4	18 ± 13,6	8,7	24,9	13,4 ± 7,7	9,4	20,2
paracétamol	11,3 ± 4,8	9,8	14,1	54 ± 25,5	39,4	57,8	198,6 ± 393,5	25,9	105,0	48,9 ± 42	14,6	76,4	45,9 ± 33,2	34,1	64,9	395,1 ± 1035,5	15,3	103,5
gemfibrozil	0,3 ± 0,4	0,2	0,5	0,5 ± 0,3	0,3	0,6	1,6 ± 1,2	0,8	2,3	0,9 ± 0,6	0,4	1,2	0,7 ± 0,8	0,3	0,6	0,9 ± 0,4	0,4	1,15
béza fibrate	0,9 ± 0,5	0,5	1,0	2,2 ± 1,4	1,5	2,9	4,4 ± 2,8	2,2	6,0	2 ± 1,5	1,0	2,5	2,4 ± 1,8	1,1	3,4	1,8 ± 1,1	1,0	2,6
ac-4- chlorobenzoïque	ND	ND	ND															
acide- féno fibrique	2,5 ± 1,7	1,5	3,0	1,9 ± 1,5	1,4	2,1	27 ± 37,7	11,1	30,5	3,5 ± 2,6	1,0	5,3	2,6 ± 2,8	0,5	4,3	1,4 ± 1,1	0,6	2,05
acide- clo fibrique	ND	ND	ND															
pravastatine	ND	ND	ND	ND	5,4	5,4	8,8 ± 8,6	5,0	9,9	15,4 ± 15,6	9,9	20,9	ND	ND	ND	ND	4,4	4,4

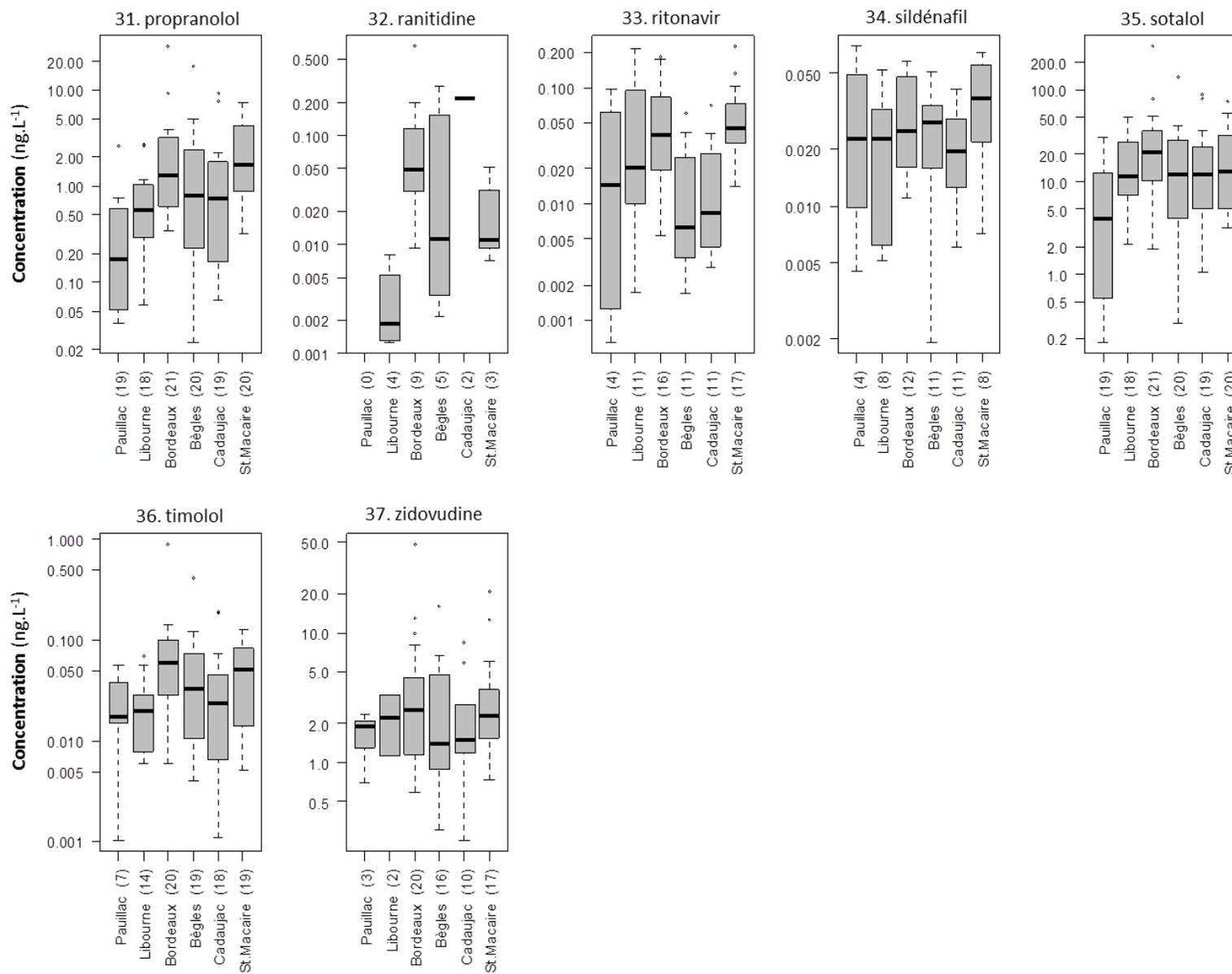
Analyte	Pauillac			Libourne			Bordeaux			Bègles			Cadaujac			St-Macaire			
	moyenne ± écart- type	1er quartile	3ème quartile																
atorvastatine	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,2	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
aténolol	1,2 ± 0,5	0,9	1,3	2 ± 1,5	1,0	2,1	6,9 ± 4	4,1	9,1	2,8 ± 1,9	1,2	3,6	2,7 ± 2	1,6	2,8	3,4 ± 1,4	2,2	4,1	
bisoprolol	0,3 ± 0,2	0,2	0,4	0,6 ± 0,3	0,4	0,7	1,9 ± 0,9	1,3	2,7	0,8 ± 0,7	0,3	1,1	1 ± 0,6	0,5	1,5	1 ± 0,5	0,6	1,1	
métoprolol	ND	0,4	0,4	0,9 ± 0,3	0,7	0,9	0,9 ± 0,3	0,8	1,1	0,7 ± 0,3	0,5	0,9	0,8 ± 0,3	0,5	1,0	0,9 ± 0,3	0,6	1	
propranolol	0,6 ± 0,4	0,3	0,6	1,7 ± 1,8	0,8	1,4	2 ± 0,8	1,4	2,4	1,1 ± 0,5	0,9	1,3	1,2 ± 0,6	0,9	1,7	1,9 ± 0,9	1,0	2,65	
sotalol	6,3 ± 3,8	3,5	9,8	13,7 ± 8,1	7,5	19,5	24,7 ± 9,2	16,5	31,7	15,6 ± 6,1	11,0	19,8	14,7 ± 7,1	7,1	20,9	13,8 ± 6,7	7,2	18,5	
timolol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,1	0,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,3 ± 0,2	0,2	0,3	
acébutolol	2 ± 0,6	1,6	2,3	2,8 ± 1,3	2,2	3,2	6,6 ± 2,8	4,3	9,1	4 ± 1,6	2,9	4,8	4,4 ± 1,5	3,2	5,2	5,6 ± 2,3	3,9	6,4	
imipramine	ND	ND	ND	ND	ND	0,4	0,4												
doxépine	ND	ND	ND	ND															
amitriptyline	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,3 ± 0,1	0,2	0,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
fluoxétine	ND	ND	ND	ND	ND	1,6	1,6												
primidone	4,8 ± 2,8	4,0	6,3	7,5 ± 5,8	3,2	11,9	6,7 ± 4,6	3,5	9,2	6,9 ± 4,4	4,2	8,5	5,3 ± 3,1	2,7	7,7	5 ± 2	3,7	6,2	
carbamazépine	7,9 ± 3,6	6,0	11,2	8,9 ± 4,1	4,9	12,2	17,9 ± 7,3	14,0	22,4	14 ± 7,2	10,2	17,6	13 ± 5,9	8,8	16,3	12,1 ± 7	7,3	14,2	
cétirizine	1,5 ± 1	0,6	2,2	2,7 ± 1,6	1,6	3,6	5,6 ± 2,4	3,8	7,0	4,1 ± 2	2,1	5,7	4,4 ± 2,3	2,6	6,2	6,6 ± 3,1	4,8	9,7	
ranitidine	ND	0,6	0,6	ND	0,2	0,2	1,7 ± 0,5	1,5	1,8	2 ± 1,5	1,0	2,5	ND	0,8	0,8	2 ± 1,7	1,0	2,5	
clenbuterol	ND	ND	ND	ND															
caféine	33,1 ± 21,2	22,4	46,4	108,7 ± 68	61,0	133,2	149,2 ± 84,1	100,1	174,6	99,3 ± 60,9	60,4	103,6	109,8 ± 90,6	61,2	121,0	103,6 ± 43,4	85,6	122,2	
théophylline	18,3 ± 12,3	9,3	21,6	53,2 ± 40	30,8	51,3	146,7 ± 120,1	58,2	180,4	80,4 ± 58	40,4	104,2	46,1 ± 22,5	29,0	55,7	75,7 ± 89,8	34,0	86,5	
sildénafil	ND	0,3	0,3	ND	0,2	0,2	ND	0,2	0,2	ND	ND	ND	ND	0,3	0,3	ND	0,2	0,2	
losartan	0,9 ± 0,7	0,4	1,2	0,8 ± 0,6	0,4	1,2	3 ± 1,8	1,9	3,6	1,4 ± 0,8	0,8	2,0	1,4 ± 0,8	0,7	2,0	1,8 ± 1	1,0	2,5	
salbutamol	ND	ND	ND	ND															
clopidogrel	0,4 ± 0,3	0,2	0,6	0,2 ± 0,1	0,1	0,3	1,4 ± 2,1	0,6	1,2	0,5 ± 0,3	0,3	0,7	0,4 ± 0,2	0,2	0,5	0,4 ± 0,3	0,3	0,5	
terbutaline	ND	ND	ND	ND															
disopyramide	1,3 ± 0,8	0,8	1,6	1,2 ± 0,7	0,7	1,6	1,7 ± 1,1	1,0	2,0	1,1 ± 0,6	0,5	1,4	1,2 ± 0,6	1,0	1,6	1,2 ± 0,7	0,7	2	

Annexe 17. Niveaux de concentrations équivalentes (ng.L⁻¹) mesurés par POCIS aux différents points de l'estuaire.

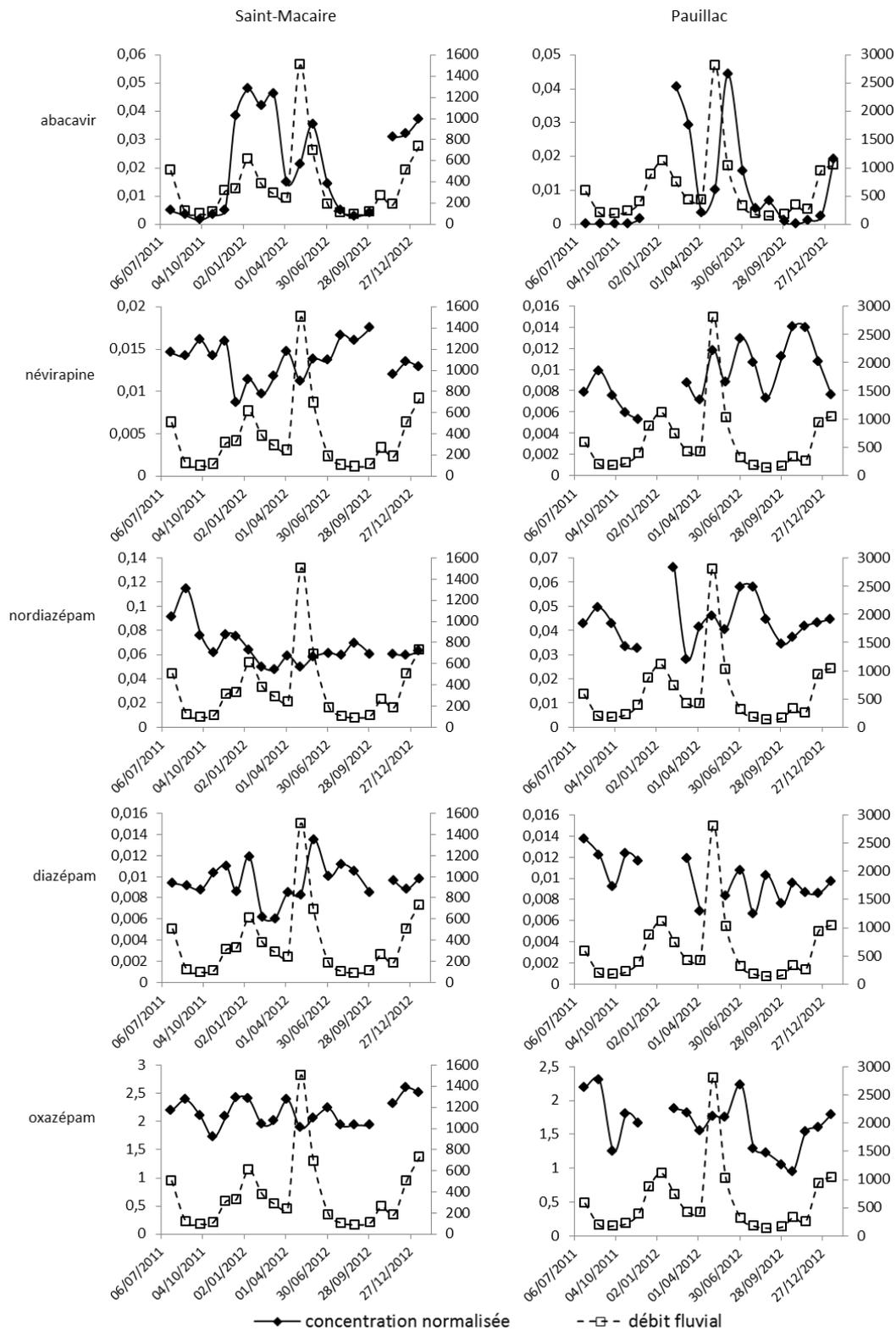




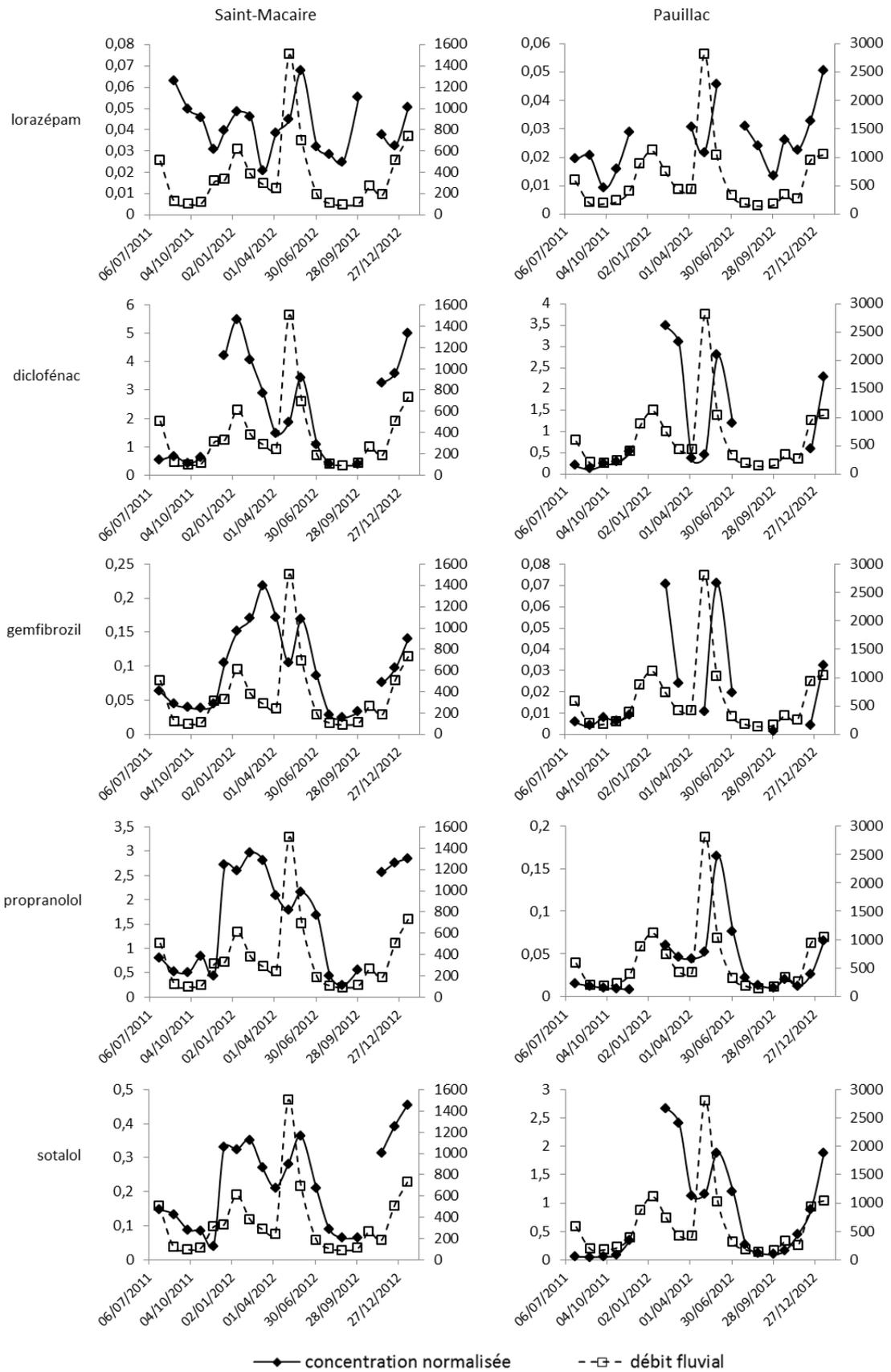




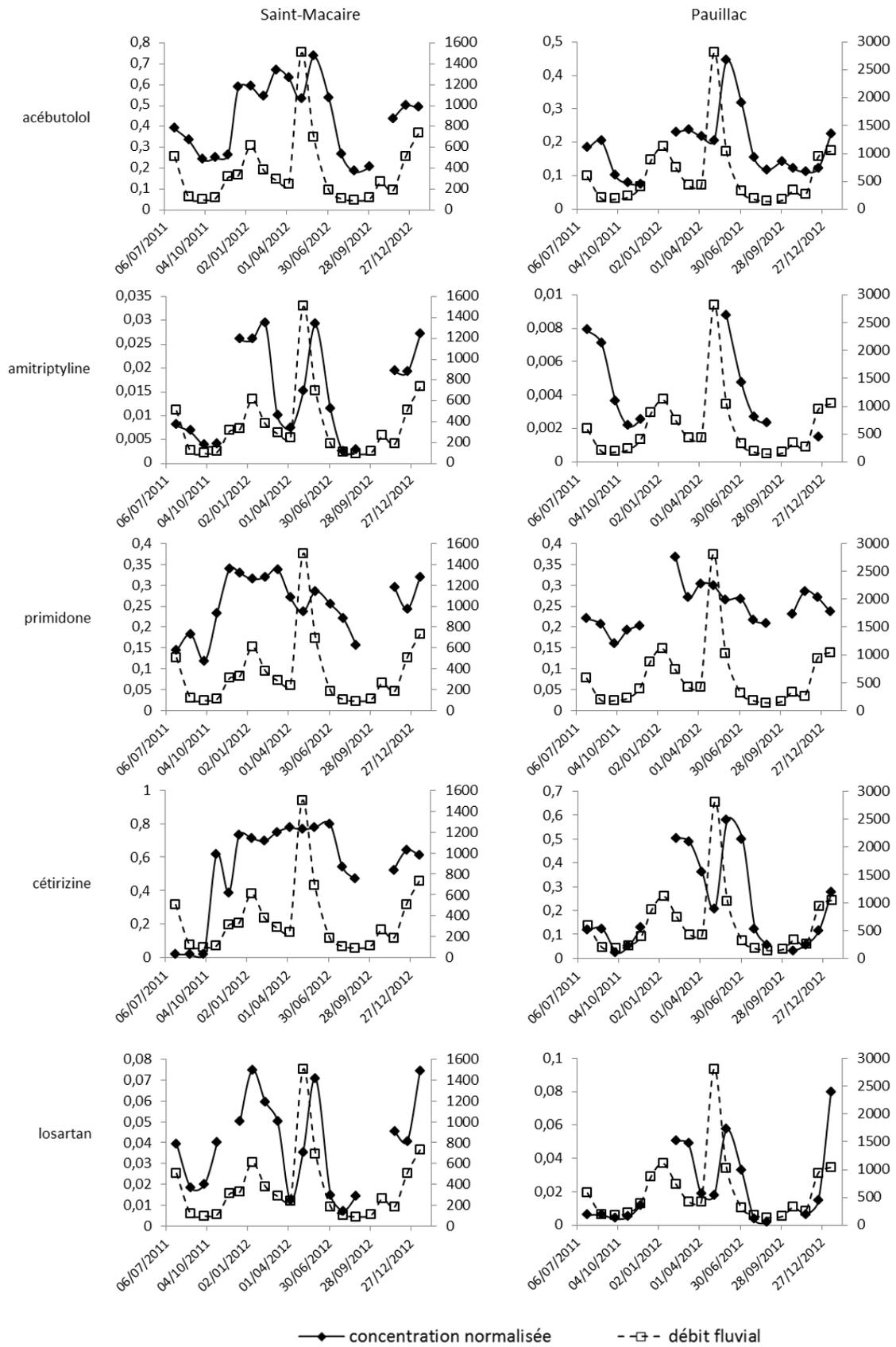
Annexe 18. Evolution annuelle des concentrations normalisées par la carbamazépine. Mesures par POCIS.



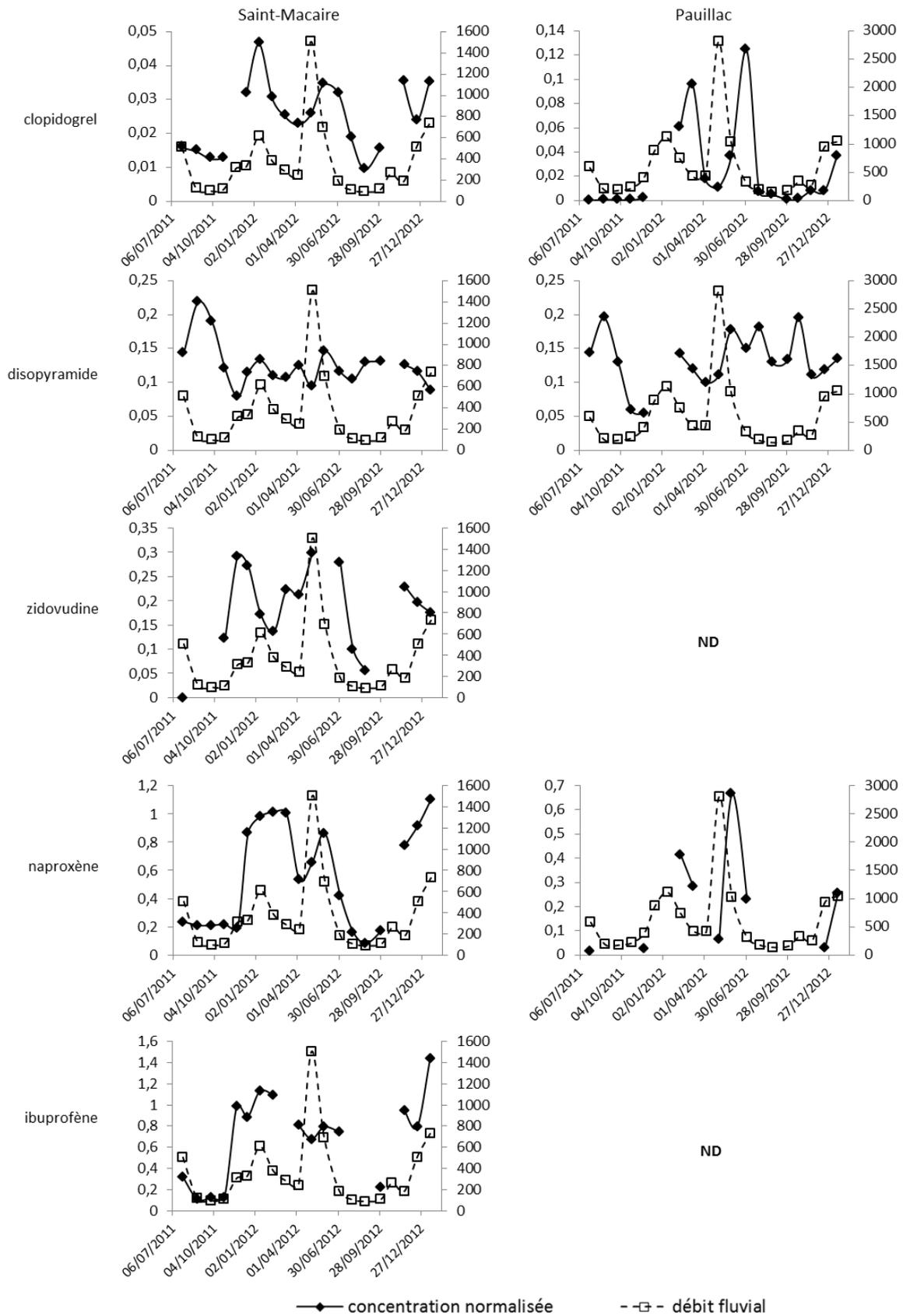
Rapports de concentration analyte/carbamazépine (axe de gauche) à St-Macaire et Pauillac et débit en $m^3 \cdot s^{-1}$ (axe de droite) de la Garonne (St-Macaire) et de la Gironde (Pauillac).



Rapports de concentration analyte/carbamazépine (axe de gauche) à St-Macaire et Pauillac et débit en $m^3 \cdot s^{-1}$ (axe de droite) de la Garonne (St-Macaire) et de la Gironde (Pauillac).



Rapports de concentration analyte/carbamazépine (axe de gauche) à St-Macaire et Pauillac et débit en $m^3 \cdot s^{-1}$ (axe de droite) de la Garonne (St-Macaire) et de la Gironde (Pauillac).



Rapports de concentration analyte/carbamazépine (axe de gauche) à St-Macaire et Pauillac et débit en $m^3 \cdot s^{-1}$ (axe de droite) de la Garonne (St-Macaire) et de la Gironde (Pauillac).

Productions scientifiques

Publications

Aminot Y., Arnaud C., Budzinski H.

Development and application of a multi-residue method for the determination of 53 pharmaceuticals in water, sediment and suspended solids using liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

À soumettre à Analytical and Bioanalytical Chemistry

Aminot Y., Litrico X., Budzinski H.

One-year monitoring of pharmaceuticals in urban wastewaters of Bordeaux, France: occurrence, variabilities and removal in wastewater treatment plants.

En préparation – à soumettre à Science of the Total Environment

Aminot Y., Budzinski H.

Calibration and field application of Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) for the continuous monitoring of pharmaceuticals in the Gironde estuary, France.

En préparation – à soumettre à Analytical and Bioanalytical Chemistry

Aminot Y., Budzinski H.

Long-term monthly monitoring of pharmaceuticals in the Gironde estuary, France: evidence of seasonal degradation.

En préparation – à soumettre à Science of the Total Environment

Aminot Y., Budzinski H.

Biotic and abiotic degradation of pharmaceuticals during in-vitro experiments modeling the discharge of treated wastewater in a highly turbid estuary.

En préparation – à soumettre à Science of the Total Environment

Communications orales

Aminot Y., Pardon P., Budzinski H.

Contamination de la Garonne estuarienne par les résidus médicamenteux : Apports amont et locaux.

Réseau Recherche Littoral Aquitain (RRLA), 8ème journée de l'estuaire 22 mars 2012, Talence, France.

Aminot Y., Pardon P., Budzinski H.

Pharmaceutical residue levels in river Garonne: Upstream and local intake.

4th Seminar Of Phd Students On Water & Health, Suez-Environnement, 11 juin 2012, Cannes, France.

Aminot Y., Pardon P., Budzinski H.

Contamination de la Garonne estuarienne par les résidus médicamenteux : Apports amont et locaux.

Journées Information Eaux (JIE), 25 septembre 2012, Poitiers, France.

Aminot Y., Pardon P., Budzinski H.

Spatial distribution of pharmaceutical residues after environmental discharge: Evaluation of occurrence and degradation in the Gironde estuary, France.

SETAC Europe 2013, 13 mai 2013, Glasgow, Royaume-Uni.

Communications par poster

Aminot Y., Pardon P., Budzinski H.

Pharmaceutical residue levels in river garonne: coverage of a raw wastewater bypass event (2011)

European Meeting on Environmental Chemistry (EMEC), 7-10 décembre 2011, Clermont-Ferrand, France.

Aminot Y., Pardon P., Budzinski H.

Development and application of a focused microwave assisted extraction protocol for the quantification of pharmaceuticals in solid matrices.

SETAC Europe 2013, 13 mai 2013, Glasgow, Royaume-Uni.

Rapports scientifiques

EPOC-LPTC

Rapport d'avancement du programme ETIAGE, Axe 2, Année 1.

Juin 2011

EPOC-LPTC

Rapport d'avancement du programme ETIAGE, Axe 2, Année 2.

Juin 2012

EPOC-LPTC

Rapport d'avancement du programme ETIAGE, Axe 2, Année 3.

Juin 2013

Publication

Development and application of a multi-residue method for the determination of 53 pharmaceuticals in water, sediment and suspended solids using liquid chromatography-tandem mass spectrometry

A soumettre à : *Analytical and Bioanalytical Chemistry*

Yann AMINOT, Christine ARNAUD, Hélène BUDZINSKI
Univ. Bordeaux, EPOC, UMR 5805, F-33400 Talence, France

Abstract

Ubiquitous presence of pharmaceuticals in the environment is of great concern. Comprehensive sources and fate studies of these micropollutants require analytical methods able to quantify a wide range of molecules over various therapeutic classes, on both aqueous and solid matrices. Considering this need, the development of an analytical method to determine 53 pharmaceuticals in aqueous phase and on solid matrices using a combination of microwave assisted extraction, solid phase extraction and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry is reported. Method was successfully validated with regards to linearity, repeatability and overall protocol recovery. Method detection limits (MDLs) do not exceed 1 ng.L^{-1} for 40 molecules (aqueous matrices) while subnanogram per gram MDLs were reached for 38 molecules (solid phase extraction). Loss due to preparative steps (cartridge percolation, reconcentration under nitrogen and vial transfer) was assessed for the 32 analytes associated to their labelled homologue, revealing an average 40 % loss during reconcentration, the most altering step. Presence of analytes in WWTP effluent aqueous phase and suspended solids (SS) as in river water, SS and sediments were then investigated on a periurban river located in the suburbs of Bordeaux, France. Results have revealed a major contribution of WWTP effluent to the river contamination. Sorption on river SS exceed 5 % for amitriptyline, fluoxetine, imipramine, ritonavir, sildenafil and propranolol and is submitted to a seasonal influence, attributed to the water temperature seasonality. Sediment contamination was lower than for SS, the sediment fine element proportion was accountable for the highest concentrations measured.

Keywords: Pharmaceuticals, multi-residue analytical method, LC-MSMS, wastewater, surface water, suspended solids, sediment, adsorption

1 Introduction

During the last 15 years, pharmaceuticals have grown from a new class of emerging concern (Daughton and Ternes, 1999) to the status of widespread micropollutants (Fatta-Kassinos *et al.*, 2011). Their presence has been identified from sources to sinks in urban and natural hydrosystems (Bayen *et al.*, 2013; Gabet-Giraud *et al.*, 2010; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008; Lajeunesse *et al.*, 2012; Teerlink *et al.*, 2012; Togola and Budzinski, 2008). Since wastewater treatment plants (WWTP) are unable to fully remove pharmaceuticals from urban effluents (Martin Ruel *et al.*, 2010; Quintana *et al.*, 2005; Rosal *et al.*, 2010), their continuous release in water bodies give them a pseudo-persistent behaviour despite a relative degradability after discharge (Benotti and Brownawell, 2007; Kunkel and Radke, 2012).

Due to their assumed hydrophilic properties, few studies consider the analysis of pharmaceuticals on suspended solids (SS), sludge or sediment. However, an average partition of 50 to 60 % (fluoxetine and norfluoxetine) has been found in the screening of illicit drugs in WWTP influents (Baker and Kasprzyk-Hordern, 2011a). In river water, Silva *et al.* (2011) have measured high concentrations of pharmaceuticals downstream WWTP discharges and a 100 % SS partition on 8 of the 30 monitored pharmaceuticals (famotidine, cimetidine, timolol, nadolol, salbutamol, gilbenclamide, sulfamethazine, chloramphenicol). β -blockers atenolol, propranolol and metoprolol also exhibited an elevated tendency to sorb onto aquifer sands on adsorption experiments conducted by Burke *et al.* (2013). In this context, comprehensive fate studies need to consider both aqueous and particulate phases as potential vectors of pharmaceuticals.

Environmental monitoring of pharmaceuticals is necessary to qualify unstudied water bodies as well as to go more thoroughly into wastewater treatment processes or environmental natural processes. Analytical methods must remain accurate in complex and various matrices and able to reach ultra-trace environmental levels. Moreover, considering the heterogeneous properties and behaviours of pharmaceuticals (Fatta-Kassinos *et al.*, 2011), multi-residue methods covering a wide range of therapeutic classes are required for the most exhaustive approach.

Most of aqueous phase protocols are based on solid phase extraction (SPE) either online (Bones *et al.*, 2006; López-Serna *et al.*, 2010; Quintana *et al.*, 2006) or offline (Baker and Kasprzyk-Hordern, 2011a; Gros *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2011; Togola and Budzinski, 2008). Considering solid matrices extraction, authors have reported protocols mainly based on pressurised liquid extraction (Baker and Kasprzyk-Hordern, 2011a; Silva *et al.*, 2011), microwave assisted extraction (MAE) (Azzouz and Ballesteros, 2012; Snow *et al.*, 2013) or sonication (Chenxi *et al.*, 2008; Ternes *et al.*, 2002).

One goal of this study was to develop and validate instrumental and preparative methods for the analysis of 53 pharmaceuticals belonging to various therapeutic classes in aqueous and solid matrices. Analyses were based on liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LCMSMS), SPE for aqueous matrices and MAE for solid matrices. Instrumental linearity, repeatability and sensibility were assessed as an instrumental validation. Preparative protocols were investigated by extraction recovery calculation, by comparison of instrumental detection limits (IDL) to method detection limits (MDL) and the evaluation of analyte loss during sample treatment.

Second purpose was to apply these methods for the multi-compartment characterization of a wastewater impacted river. Pharmaceutical contamination was evaluated during two sampling campaigns on effluent aqueous phase and SS, as well as on river water, SS and sediment. Sorption percentage and partition coefficient were also calculated.

Selected analytes are: antiretrovirals (abacavir, indinavir, lamivudine, nevirapine, nelfinavir, saquinavir, ritonavir, zidovudine), psycholeptics (bromazepam, nordiazepam, alprazolam, diazepam, oxazepam, lorazepam, clonazepam, meprobamate), analgesics (ketoprofene, naproxene, diclofenac, ibuprofene, 2-hydroxy-ibuprofen, paracetamol), lipopenics (gemfibrozil, bezafibrate, clofibrac acid, fenofibrac acid, 4-chlorobenzoic acid, pravastatin, atorvastatin), β -blockers (atenolol, bisoprolol, metoprolol, propranolol, sotalol, timolol, acebutolol), antidepressants (imipramine, doxepin, amitriptyline, fluoxetine), bronchodilators (theophylline, salbutamol, terbutaline), anticonvulsants (carbamazepine, primidone), antihistaminics (ranitidine, cetirizine), β_2 agonist (clenbuterol), stimulant (caffeine), PDE-5 inhibitor (sildenafil), antihypertensive (losartan), antiplatelet agent (clopidogrel), antiarrhythmic (disopyramide).

2 Materials and methods

2.1 Chemicals and reagents

Details on pharmaceuticals are given in Supplementary Data #1 (CAS number, formula, log Kow, supplier, associated internal standard). All native and labelled standards were of high purity grade (> 98 %). Individual stock solutions were prepared in acetonitrile from powder under gravimetric control and stored in the dark at -20 °C. Mixed work solutions (native and internal standards) were prepared in acetonitrile by dilution of these solutions at about 2 $\mu\text{g/g}$. All solvents were HPLC grade; acetone, dichloromethane and ethyl acetate (Scharlau) were supplied by ICS (Belin-Beliet, France); methanol and acetonitrile (J.T. Baker) were supplied by Atlantic Labo (Eysines, France). Hydrochloric acid (37%, Scharlau) and formic acid (88%, J.T. Baker) were supplied by Atlantic Labo (Eysines, France). Ammonium hydroxyde (28-30%) were purchased from Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). Vittel mineral water was supplied by France Boisson (Lormont, France). Ultra-pure water was produced on-site on a Milli-Q system, Millipore (Molsheim, France) with a specific resistivity of 18.2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ (25 °C) and a Total Organic Carbon < 2 ppb.

2.2 Sampling site, sample collection and preparation

Jalle de Blanquefort is a 34 km periurban river in the north suburbs of Bordeaux (average flow: $3 \text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$, catchment area: 322 km^2), impacted by Cantinolle WasteWater Treatment Plant (85 000 population-equivalents). The plant has a secondary treatment facility (biofilters) and discharges at an average $0.12 \text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$ flow. On 12/12/11 and 23/07/12, six points have been sampled in the river in addition to the collection of the 11/12/11 and the 22/07/12 WWTP effluent 24 h composite samples (flow proportionnal). Position of the sampling points is given in Fig 1. At each point, 20 L, collected in a HDPE bottle (Nalgene, supplied by Fisher Bioblock Scientific, Illkirch, France) and an approximate volume of 500 mL of sediments have been grabbed. Water samples were

filtered through glass microfiber filters, GFF (0.7 μm) (Whatman, supplied by Fisher Bioblock Scientific, Illkirch, France). 5 to 10 filters were kept for particle analysis. Before analysis, water samples were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ and solid matrices were freeze-dried and stored in the dark at ambient temperature. All glassware and filters used were previously detergent washed, acid rinsed and calcinated at $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 8 h.

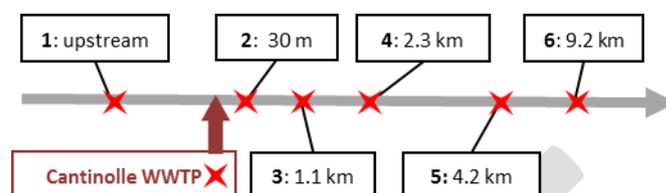


Fig 1. Schematic representation of Jalle de Blanquefort river and sampling points.

SPE protocol is adapted from Togola and Budzinski (2008) in which Oasis MCX 60 mg cartridges (Waters, St Quentin en Yvelines, France) were selected for 16 of the studied pharmaceuticals.

An initial volume of 100 mL (method development and wastewater) or 200 mL (river water) was acidified to pH 2 with HCl (3.5 M) prior to internal standards addition (20 μL of the mixed work solution, gravimetrically controlled). SPE was conducted on a Visiprep vacuum manifold from Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). Before sample loading, SPE cartridges were conditioned with 3 mL of ethyl acetate and 3 mL of Vittel mineral water adjusted to pH 2. Sample was percolated onto the cartridges under gentle vacuum at a flow rate of $5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ and then air-dried for 1 h under vacuum. Elution consisted in a 3 step combination of solvents: 3 mL ethyl acetate, 3 mL ethyl acetate/acetone (50/50, v/v) and 3 mL methanol/dichloromethane/ammonium hydroxide (48/48/4, v/v/v). After complete evaporation to dryness under a gentle stream of nitrogen (purity > 99,99 %) with a moderate heating ($40\text{ }^{\circ}\text{C}$), samples were reconstituted with 300 μL ultra-pure water/acetonitrile (90/10, v/v) if injected within a day or with 300 μL acetonitrile as an intermediate if stored before injection ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Focused Microwave Assisted Extraction was performed on Microdigest 301, Prolabo (Fontenay sous Bois, France). The 5 to 10 filters or 0.5 g of sediment were spiked with the internal standard work solution (20 μL) under gravimetric control and extracted in 30 ml of acetonitrile/pH 2 Vittel mineral water (70/30, v/v) for 10 min (30 W). The extracts were filtered on glass fiber cotton and solvent was evaporated under vacuum using a RapidVap system (Bioblock, Fontenay-sous-Bois, France) at $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, 650 mbars for 45 min. Aqueous concentrates were then reconstituted with 30 ml of pH 2 Vittel mineral water and purified by SPE according to the previous protocol.

2.3 LC-ESI-MS-MS

LC analysis was performed using an Agilent Technologies 1200 HPLC system coupled to an Agilent Technologies 6410 triple quadrupole mass spectrometer equipped with an electrospray.

Chromatographic separation was achieved on an Agilent Zorbax SB-C18 column (50 x 2.1 mm, particle size 1.8 μm) within 17 min in positive mode and 38 minutes in negative mode for a good separation of ketoprofen and a co-eluting compound. In positive mode, ultra-pure water and acetonitrile, both acidified with 0.1 % vol. of formic acid, were used as mobile phases, at a flow rate of 0.6 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ and a temperature of 30 $^{\circ}\text{C}$. In negative mode, ultra-pure water and acetonitrile were used, at a same flow rate and temperature. Sample injection volume was set at 5 μL . Chromatographic gradients, complete ionisation and mass spectrometer parameters are reported in Supplementary Data #2. Briefly, the analyser was operated in dynamic multiple residue monitoring (MRM) in positive mode, with a dwell time varying between 12 to 397 ms according to the number of transition to monitor and in classic MRM in negative mode, with a 20 ms dwell time. Data was collected and analysed with the Agilent Masshunter Quantitative Analysis software.

Identification of each compound was ensured through the monitoring of two transitions, except for ketoprofen, ibuprofen and hydroxy-ibuprofen where fragmentation patterns give a unique fragment ion. The ion ratio, given in Supplementary Data #2, was used as a confirmation criteria. Furthermore, as 32 pharmaceuticals are associated to their labelled homologue, the internal standard retention time was an additional control point.

2.4 Method validation

Instrumental blank samples were analysed between each sample to control any contamination of the analytical system. Procedural blank samples were extracted for each batch experiment: they consisted in the elution of a cartridge spiked with internal standard for aqueous samples and the whole extraction of calcinated filters spiked with internal standards for solid matrices. No contamination was observed in neither instrumental nor procedural blanks. In addition, in each batch extraction experiment, Vittel mineral water was spiked with native compounds (200 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) and extracted as a sample to calculate extraction recoveries. In the case of solid matrices, calcinated filters were enriched with the solution of native compounds (50 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$).

The method was validated on the instrumental part through estimation of linearity, repeatability and sensitivity and through extraction recoveries concerning the whole extraction protocol. In addition, specific experiments, detailed in section 3.2, evaluated the loss of analytes during sample preparation.

Linearity was investigated over a eight-point calibration ranging from 0.4 to 6000 pg injected, performed in triplicate. Instrumental repeatability was assessed by measuring the relative standard deviation of 10 injections of the same standard solution, corresponding to 60 pg injected. Instrumental Detection Limits (IDLs) were calculated by extrapolation of the signal to noise ratio of the low range point for each molecule to a value of 3. Noise region lasted 0.2 min and started 0.4 min before the peak, the noise value was taken as the height of the highest noise peak ("peak-to-peak" mode). Method Detection Limits (MDLs) were extrapolated from signal to noise ratio measured on enriched samples extracted in triplicate.

3 Results and discussions

3.1 Linearity and repeatability

All pharmaceuticals exhibited an acceptable linearity ($R^2 > 0.99$) in the tested range (Table 1). Very good responses were obtained for clofibrac acid, disopyramide and gemfibrozil.

Intra-day variability did not exceed 10 % for 46 molecules, the remaining 7 were molecules scarcely retained on the chromatographic column and likely to exhibit deformed peaks.

Table 1. Instrumental linearity and repeatability.

Analyte	linearity		repeatability	Analyte	linearity		repeatability
	Slope \pm standard deviation	R ²	RSD %		Slope \pm standard deviation	R ²	RSD %
abacavir	78 \pm 2	0.9973	8	pravastatin	179 \pm 4	0.9974	8
indinavir	620 \pm 2	1.0000	6	atorvastatin			
lamivudine	151 \pm 7	0.9891	4	atenolol	31 \pm 1	0.9989	8
nelfinavir	480 \pm 2	0.9999	2	bisoprolol	681 \pm 6	0.9996	5
nevirapine	184 \pm 1	0.9999	7	métoprolol	64 \pm 0	0.9999	7
ritonavir	127 \pm 1	0.9996	2	propranolol	164 \pm 1	0.9999	5
saquinavir	309 \pm 1	0.9999	3	sotalol	85 \pm 1	0.9993	19
zidovudine	60 \pm 2	0.9968	17	timolol	132 \pm 1	0.9994	10
bromazepam	89 \pm 1	0.9997	9	acebutolol			
nordiazepam	186 \pm 1	0.9997	2	imipramine	580 \pm 2	0.9999	4
alprazolam	152 \pm 1	0.9996	3	doxepin	285 \pm 1	0.9999	3
diazepam	212 \pm 1	0.9999	2	amitriptyline	211 \pm 1	0.9997	2
oxazepam	257 \pm 1	0.9999	6	fluoxetine	132 \pm 2	0.9984	7
lorazepam	133 \pm 1	0.9999	5	primidone	69 \pm 0.3	0.9999	8
clonazepam	147 \pm 2	0.9992	6	carbamazepine	242 \pm 2	0.9994	4
meprobamate	137 \pm 1	0.9998	6	cetirizine	689 \pm 6	0.9995	7
ketoprofen	528 \pm 3	0.9999	2	ranitidine	73 \pm 1	0.9984	14
naproxen	277 \pm 2	0.9998	5	clenbuterol	291 \pm 1	0.9999	6
diclofenac	549 \pm 2	0.9999	7	caffeine	72 \pm 2	0.9943	20
ibuprofen	103 \pm 2	0.9989	9	theophylline	18 \pm 0.1	1.0000	9
2-hydroxy-ibuprofen				sildenafil			
paracetamol	21 \pm 0.2	0.9996	27	losartan			
gemfibrozil	897 \pm 2	1.0000	2	salbutamol	108 \pm 2	0.9986	24
bezafibrate	136 \pm 2	0.9985	5	clopidogrel			
4-chlorobenzoic acid	328 \pm 4	0.9993	9	terbutaline	97 \pm 1	0.9990	17
fenofibrac acid				disopyramide	983 \pm 17	0.9980	4
clofibrac acid	1091 \pm 9	0.9996	3				

3.2 Instrumental detection limits

IDLs, summarized in Fig 2, ranged from 0.1 (disopyramide) to 9 pg injected (paracetamol) while 49 out of the 53 pharmaceuticals exhibited IDLs of less than 6 pg injected. Considering the extraction of 100 mL to a 300 μ L extract and a 5 μ L injection volume, a 6 pg injected IDL corresponds to a theoretical 4 ng.L⁻¹ detection limit in samples. Results were thus in accordance with trace levels likely to be found in river waters, details on each molecule IDL and MDL are given in Table 2.

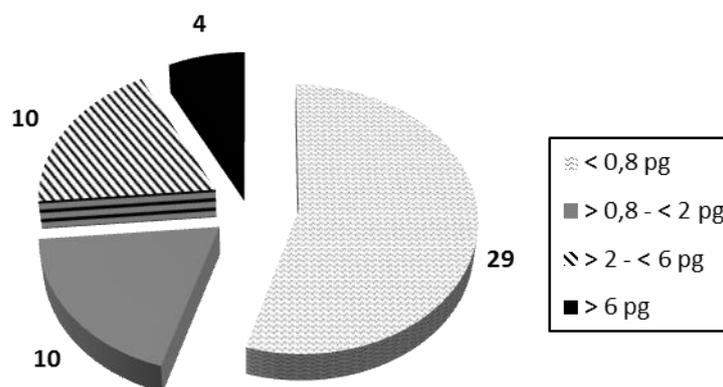


Fig 2. Distribution of IDLs for the 53 pharmaceuticals

The whole aqueous matrices and solid matrices protocols was applied to determine MDLs. Aqueous matrices MDLs were not greater than 1 ng.L^{-1} for 40 molecules, confirming the ability of the protocol to monitor these compounds in dilute aquatic systems. The highest MDLs were 6.3 ng.L^{-1} (caffeine), 5.7 ng.L^{-1} (4-chlorobenzoic acid) and 4.9 ng.L^{-1} (paracetamol) which remained acceptable. Concerning solid matrices, subnanogram per gram MDLs were reached for 38 molecules. Relatively high MDLs ($> 5 \text{ ng.g}^{-1}$) were reported for a small percentage of the compounds: caffeine (29 ng.g^{-1}), theophylline (28 ng.L^{-1}), paracetamol (12 ng.L^{-1}) and terbutaline (6.2 ng.L^{-1}).

These MDLs were compared to extrapolated IDLs. On aqueous matrices, 44 molecules exhibited no difference between measured and extrapolated DLs (within a factor of 2) compared to only 17 molecules when extracting solid matrices. For the 9 molecules with higher MDLs than extrapolated IDLs in SPE, possible explanations are the loss of analyte during the various SPE preparation steps (investigated further in this section) and the increase of the noise. Ratios < 1 corresponded to a normal variability of the instrumental response. The higher number of molecules affected by this increase in MDLs on solid matrices extraction is attributed to the higher number of analytical steps involved in the procedure (MAE, glassware transfers, filtration, evaporation) and the possible degradation of analytes during the MAE step. The temperature increase during microwave irradiation can cause the decomposition of thermolabile compounds (Camel, 2000; Madej, 2009; Sanchez-Prado *et al.*, 2010). Azzouz and Ballesteros (2012) reported a loss in clofibric acid, metoprolol and propranolol when a high microwave power was applied.

Table 2. IDL and MDL. Aqueous matrices MDL n=3, solid matrices MDL n=10. Ratios > 2 are marked with an asterisk.

Analyte	IDL ng injected	Aqueous matrices			Solid matrices		
		Extrapolated IDL ng.L^{-1}	MDL ng.L^{-1}	MDL/extrapolated IDL ratio	Extrapolated IDL ng.g^{-1}	MDL ng.g^{-1}	MDL/extrapolated IDL ratio
abacavir	0.2	0.1	0.14 ± 0.01	1	0.03	0.14 ± 0.12	4.9*
indinavir	1.6	0.4	0.3 ± 0.2	0.8	0.07	0.04 ± 0.02	0.6
lamivudine	0.2	0.1	0.8 ± 0.3	7*	0.02	0.6 ± 0.3	27*
nelfinavir	0.5	0.1	0.075 ± 0.001	0.6	0.02	0.04 ± 0.01	1.5
nevirapine	0.3	0.2	0.2 ± 0.1	1.5	0.03	0.08 ± 0.07	2.4*
ritonavir	3.0	0.3	0.33 ± 0.01	1.3	0.05	0.11 ± 0.02	2.1*
saquinavir	2.3	0.1	0.12 ± 0.03	2	0.01	0.06 ± 0.01	4.9*

Analyte	IDL ng injected	Aqueous matrices			Solid matrices		
		Extrapolated IDL ng.L ⁻¹	MDL ng.L ⁻¹	MDL/extrapolated IDL ratio	Extrapolated IDL ng.g ⁻¹	MDL ng.g ⁻¹	MDL/extrapolated IDL ratio
zidovudine	2.2	1.3	3.3 ± 2	2.5*	0.3	1.1 ± 0.9	4.1*
bromazepam	0.7	0.4	1.1 ± 0.7	2.5*	0.09	1.01 ± 0.4	12*
nordiazepam	0.4	0.2	0.3 ± 0.2	1.2	0.04	0.12 ± 0.09	2.8*
alprazolam	0.4	0.2	0.192 ± 0.005	0.9	0.04	0.5 ± 0.2	12*
diazepam	0.4	0.2	0.39 ± 0.37	1.8	0.04	0.2 ± 0.1	4.0*
oxazepam	1.0	0.6	0.85 ± 0.07	1.5	0.1	0.21 ± 0.18	1.9
lorazepam	0.9	0.5	0.97 ± 1	1.8	0.1	0.2 ± 0.16	1.9
clonazepam	0.5	0.3	0.4 ± 0.1	1.5	0.06	0.11 ± 0.07	1.9
meprobamate	2.9	1.7	0.5 ± 0.2	0.3	0.3	0.39 ± 0.35	1.1
ketoprofen	2.3	1.4	2.2 ± 0.2	1.5	0.3	2.9 ± 2.8	10*
naproxen	0.9	0.6	0.17 ± 0.03	0.3	0.1	0.2 ± 0.1	2.0
diclofenac	0.9	0.5	0.9 ± 0.7	1.7	0.1	0.14 ± 0.03	1.3
ibuprofen	7.0	4.2	4.4 ± 1.8	1.1	0.8	1.5 ± 0.9	1.8
2-hydroxy-ibuprofen	5.4	3.2	1.8 ± 0.3	0.6	0.6	1.3 ± 1	2.0
paracetamol	8.9	5.3	4.9 ± 2	0.9	1.1	12.4 ± 6.5	12*
gemfibrozil	0.4	0.2	0.14 ± 0.15	0.6	0.05	0.05 ± 0.03	1.1
bezafibrate	0.6	0.4	0.6 ± 0.2	1.6	0.07	0.2 ± 0.1	2.3*
4-chlorobenzoic acid	8.9	5.3	5.7 ± 1.8	1.1	1.1	1.6 ± 1.3	1.5
fenofibric acid	0.2	0.1	0.14 ± 0.02	0.9	0.03	0.8 ± 2.2	25*
clofibrac acid	0.4	0.2	0.2 ± 0.03	1	0.04	2.6 ± 6.2	63*
pravastatin	2.5	1.5	0.8 ± 1.3	0.5	0.3	4 ± 6.6	13*
atorvastatin	0.5	0.3	1.8 ± 1.6	5.7*	0.06	0.3 ± 0.1	3.9*
atenolol	0.6	0.4	1.4 ± 0.2	3.9*	0.07	2.1 ± 0.6	28*
bisoprolol	0.3	0.2	0.2 ± 0.1	1.1	0.03	0.06 ± 0.04	1.8
metoprolol	0.6	0.3	0.5 ± 0.3	1.4	0.07	0.3 ± 0.2	4.6*
propranolol	0.9	0.5	0.3 ± 0.1	0.5	0.1	0.14 ± 0.12	1.4
sotalol	2.0	1.2	1.4 ± 0.2	1.2	0.2	2.3 ± 0.7	9.7*
timolol	0.2	0.1	0.11 ± 0.01	0.8	0.03	0.1 ± 0.05	3.4*
acebutolol	0.2	0.1	0.11 ± 0.03	1.2	0.02	0.09 ± 0.05	4.8*
imipramine	0.6	0.2	0.1 ± 0.07	0.5	0.04	0.08 ± 0.04	2.2*
doxepin	0.8	0.5	0.4 ± 0.4	0.9	0.1	0.3 ± 0.2	2.8*
amitriptyline	0.2	0.1	0.15 ± 0.06	1.1	0.03	0.2 ± 0.1	5.6*
fluoxetine	0.2	0.1	0.14 ± 0.02	0.9	0.03	0.08 ± 0.09	2.7*
primidone	4.6	2.8	2 ± 0.7	0.7	0.6	2.8 ± 1.4	5.1*
carbamazepine	1.3	0.8	0.5 ± 0.1	0.6	0.16	0.12 ± 0.06	0.8
cetirizine	0.1	0.1	0.4 ± 0.1	4.3*	0.02	0.06 ± 0.03	3.7*
ranitidine	0.7	0.4	0.15 ± 0.04	0.3	0.09	0.18 ± 0.18	2.1*
clenbuterol	0.2	0.1	0.3 ± 0.1	2.1*	0.02	0.8 ± 0.7	31*
caffeine	8.4	5.0	6.3 ± 4.5	1.3	1.0	28.8 ± 25.3	29*
theophylline	3.2	1.9	3.3 ± 0.6	1.7	0.4	28.2 ± 34.6	73*
sildenafil	1.1	0.7	0.3 ± 0.1	0.4	0.1	0.2 ± 0.1	1.8
losartan	0.2	0.1	0.07 ± 0.01	0.7	0.02	0.06 ± 0.05	2.9*
salbutamol	0.2	0.1	0.2 ± 0.1	1.6	0.02	0.5 ± 0.4	24*
clopidogrel	0.9	0.6	0.2 ± 0.1	0.4	0.1	0.13 ± 0.07	1.2
terbutaline	0.3	0.2	0.6 ± 0.2	3.4*	0.03	6.2 ± 7.4	180*
disopyramide	0.1	0.04	0.091 ± 0.013	2.5*	0.01	0.03 ± 0.01	3.7*

In order to explore the analyte loss during SPE, extraction recoveries were calculated on native enriched Vittel mineral water under three different conditions performed in triplicate: samples were

enriched with the internal standard mixture 1) before loading the sample on the cartridge (reference); 2) before elution (evaluation of the analyte loss during percolation); 3) after evaporation and transfer to injection vial (evaluation of the analyte loss during percolation, reconcentration and transfer). In order to ensure the most accurate quantification, studied analytes were limited to those associated to their labelled homologue. Results, presented in figure Fig 3, revealed that the percolation step is responsible of a significant loss of abacavir (18 %), lamivudine (87 %), bromazepam (36 %), paracetamol (58 %), pravastatin (20 %), atorvastatin (93 %), primidone (16 %) and caffeine (29 %), attributed to a low affinity for the sorbent combined to a percolated volume exceeding a possible breakthrough volume (Bielicka-Daszkiwicz and Voelkel, 2009).

Concerning the rest of the protocol, most analytes exhibited a significant loss (average 40 %) that could reach 95 % (cetirizine). The reasons for this observation are complex and involve volatility, thermolability and sorption to glassware. Baker and Kasprzyk-Hordern (2011b) studied the influence of evaporation temperature on the recoveries of drugs of abuse and observed optimal values at 20 °C, decreasing for higher temperature. However, 40 °C (as in this study) was recommended as an acceptable compromise. The influence of evaporation to dryness as well as the possible adsorption to glassware still need further investigations.

These various loss accounted for the increase observed between extrapolated IDL and measured MDL. However, in both cases, the addition of internal standards at the very beginning of the protocol (case 1, "reference") has compensated these loss, all recoveries being in the acceptable range of 80-120 %. This study emphasized the necessity to evaluate the behaviour of analytes during sample preparation, as the accurate measurement of the sensitive ones require the use of their labelled homologue.

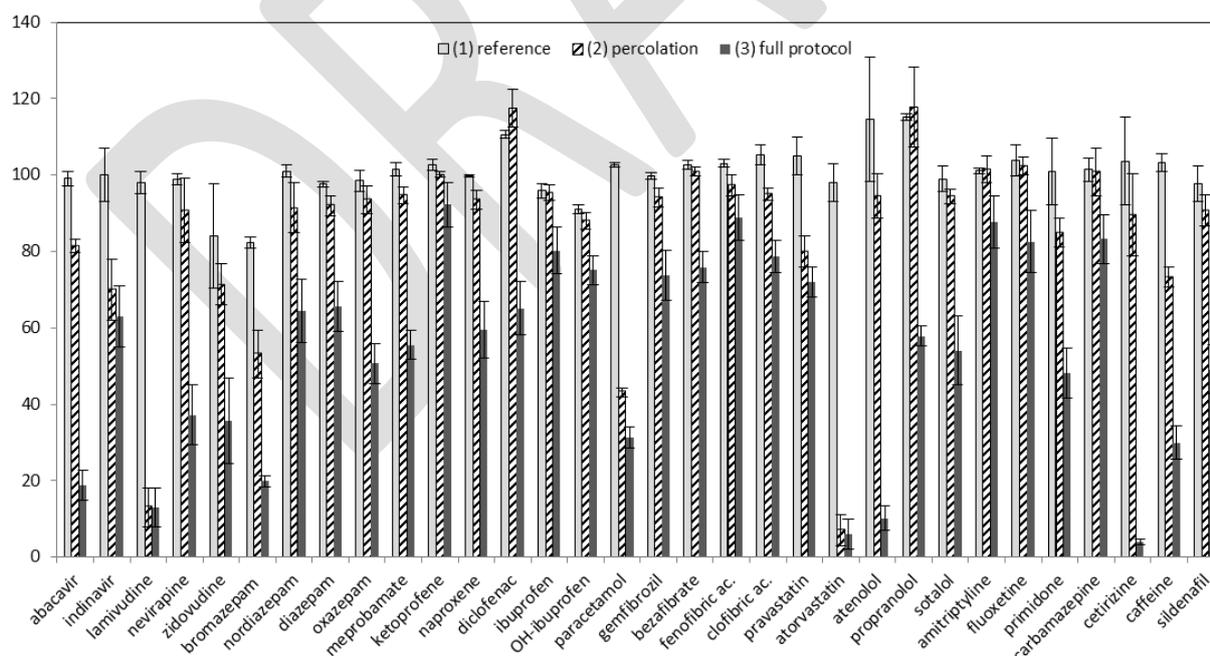


Fig 3. Evaluation of the analyte loss during SPE. Samples enriched with the internal standard mixture 1) before loading the sample on the cartridge (reference); 2) before elution (percolation); 3) after evaporation and transfer to injection vial (full protocol).

3.3 Extraction recoveries

On aqueous matrices, recovery was assessed at a concentration of 200 ng.L⁻¹ on 19 samples extracted over 10 different days while for solid matrices concentration was set at 50 ng.g⁻¹, on 13 samples extracted over 7 different days. Recoveries are presented in Fig 4, numeric values are available in Supplementary Data #3.

Mediane recoveries were in the acceptable range of 80-120 % for 46 (SPE) and 43 (MAE) molecules. With the exception of indinavir, molecules out of this range are not quantified through their labelled homologue. Moreover, these analytes exhibit hydrophilic properties (low log D, low chromatographic retention time) that have already been accounted for the low recoveries in the case of ranitidine (log D = -3.6 at pH 2; Gómez *et al.*, 2006). The use of labelled homologue for these molecules would improve the recoveries. In the case of caffeine and lamivudine in solid matrices, recoveries significantly higher than 100 % are probably due to the loss of their labelled homologue during preparation steps. Indeed, changes in isotope ratio have already been reported in a previous study (Lee *et al.*, 2013) and attributed to sample preparation while using deuterated tocopherol to quantify native tocopherol.

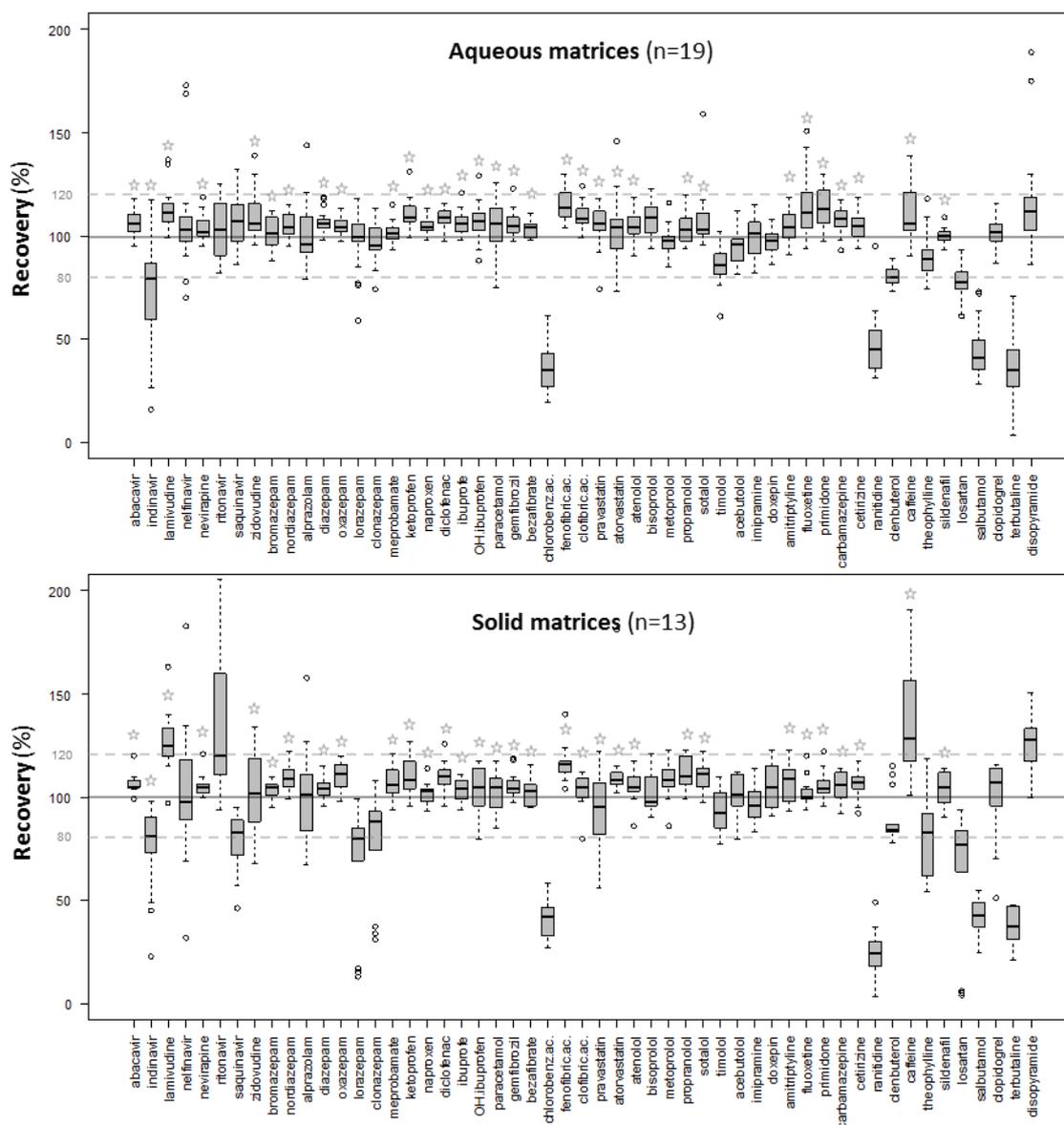


Fig 4. Extraction recoveries on aqueous matrices and on solid matrices. Molecules quantified through their labelled homologue are marked with a star.

3.4 Contamination of the studied site

Concentrations of effluent aqueous phase and SS, as well as river water, SS and sediments are given in Table 3.

In wastewater effluent, 44 to 47 molecules were detected in the dissolved phase while 26 to 29 were found bound to suspended solids. In the river, 41 to 43 and 18 to 22 molecules were detected in the dissolved phase and the suspended solids respectively, downstream the discharge point. In sediment, 2 to 21 molecules were measured above MDLs depending on the sampling point. In every matrices, the lowest detection rates were encountered at the upstream point.

Maximum wastewater effluent concentrations were obtained for sotalol (2931 ng.L⁻¹) and fenofibric acid (2620 ng.L⁻¹) while in the river, upstream the discharge point, meprobamate and caffeine

exhibited the highest concentrations (67 and 54 ng.L⁻¹, respectively). Concerning suspended solids, sotalol and ritonavir (605 and 588 ng.g⁻¹ dry weight, respectively) were the effluent most abundant molecules, upstream particles contamination being low, 37 ng.g⁻¹ dry weight for propranolol and 13 ng.g⁻¹ dry weight for oxazepam.

Paracetamol was detected in the effluent up to 860 ng.L⁻¹ during the winter campaign but was not detected in the summer campaign. Quasi-complete elimination of paracetamol during secondary treatment (Rosal *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2013) suggested lower treatment performances during the december campaign. Moreover, the studied WWTP was found to be the main contributor of the river contamination with an average 7 fold increase of pharmaceutical concentrations after discharge (median value of the ratio downstream/upstream concentration).

Levels of concentrations in the wastewater effluent are in relative good accordance with those reported in literature. Antiviral drugs abacavir and lamivudine were reported at lower levels by Prasse *et al.* (2010). Concentrations of psychotropic drugs diazepam, nordiazepam, lorazepam, amitriptyline, fluoxetine and carbamazepine are consistent with those found by Baker and Kasprzyk-Hordern (2013) and Huerta-Fontela *et al.* (2010). However, in these studies, significative lower levels were obtained for oxazepam (5 to 324 ng.L⁻¹ compared to 900-1400 ng.L⁻¹ in our study). On the contrary, bromazepam ranged between 100 and 15 500 ng.L⁻¹ (Huerta-Fontela *et al.*, 2010) while in our study it remained lower than 10 ng.L⁻¹. Discrepancies in prescription practices could be accounted for these differences. Most of analgesics, lipopenics and β -blockers were also found at similar levels in the wastewater effluents studied by Gros *et al.* (2006) and Rosal *et al.* (2010), with the exception of sotalol and fenofibric acid, quantified at much lower levels in their studies (around 100 ng.L⁻¹ compared to > 1000 ng.L⁻¹ in our study). To our knowledge, ritonavir, indinavir, saquinavir and clopidogrel were detected in WWTP effluents for the first time in this study.

As pharmaceutical compounds are entering surface waters essentially from WWTP effluent discharges (Ashton *et al.*, 2004; González Alonso *et al.*, 2010), the size of the WWTP and the flow of the receiving surface water govern its contamination levels. River Jalle de Blanquefort is expected to exhibit relatively high concentration levels because of the little dilution observed (effluent discharge flow is assumed to represent one sixth of the river upstream flow during the july campaign) and the important population connected to the plant (64 179 inhabitants, WWTP owner evaluation).

Comparison to various urban rivers impacted by WWTP effluent discharges give similar aqueous phase concentrations (Ashton *et al.*, 2004; Baker and Kasprzyk-Hordern, 2013; González Alonso *et al.*, 2010; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008; Rodil *et al.*, 2012). The same discrepancies as in wastewater are observed concerning oxazepam, significantly less concentrated in the study of Baker and Kasprzyk-Hordern (2013) than in our study. Another study of surface waters in France by Vulliet and Cren-Olivé (2011) has reported lower levels of concentration for all common pharmaceuticals. However, measurement of the oxazepam to carbamazepine concentration ratio gives similar relative concentrations as in Jalle de Blanquefort river, confirming a probable difference in prescription practices between France and UK for this compound.

Few studies have reported sorption of pharmaceuticals to suspended matter or sediment, either in effluent or river water. Baker and Kasprzyk-Hordern (2011a) have measured significant adsorption of

amitriptyline, fluoxetine and sildenafil to suspended solids, in agreement with our measurements. The study by Silva *et al.* (2011) investigated the partition of 43 pharmaceuticals between water, suspended solids and sediments. Results revealed that the aqueous phase is the main vector of the contamination but that partition to suspended solids could reach 100 % (timolol, salbutamol, famotidine). In our study timolol and salbutamol were not detected in SS.

DRAFT

Table 3. Concentrations of water, suspended solid and sediment measured in the WWTP effluent and in the river water on the 2 sampling campaigns (11/12/12 and 12/07/23). nd: not detected. Solid matrix concentrations are given in ng.g⁻¹ dry weight.

Analyte	Water concentration (ng.L ⁻¹)						Suspended solid concentration (ng.g ⁻¹)						Sediment concentration (ng.g ⁻¹)			
	WW effluent		Upstream		Average downstream n=5		WW effluent		Upstream		Average downstream n=5		Upstream		Average downstream n=5	
	dec-11	jul-12	dec-11	jul-12	dec-11	jul-12	dec-11	jul-12	dec-11	jul-12	dec-11	jul-12	dec-11	jul-12	dec-11	juil-12
abacavir	33	31	nd	0.7	0.8 ± 0.4	2.6 ± 1.7	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.1 ± 0	nd
indinavir	1.5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
lamivudine	6.5	44	nd	nd	nd	4.1 ± 2.5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nelfinavir	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.6	0.3	0.3 ± 0.2	nd	nd	nd	nd	0.2 ± 0.1
nevirapine	3.0	7.7	nd	nd	0.4 ± 0.1	1.3 ± 0.6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
ritonavir	53	155	nd	0.2	2 ± 1	12 ± 5	1372	588	16	9.9	55 ± 22	59 ± 31	nd	0.2	1 ± 1.3	1.4 ± 1.9
saquinavir	0.2	nd	nd	nd	nd	nd	4.0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
zidovudine	191	154	nd	nd	nd	33 ± 27	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
bromazepam	6.8	9.2	nd	nd	nd	1.1 ± 0.8	70	12	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
nordiazepam	13	21	0.3	0.4	1.9 ± 0.3	3 ± 0.9	nd	7.5	nd	nd	0.2 ± 0.2	nd	nd	nd	nd	0.2 ± 0.2
alprazolam	3.9	4.3	nd	nd	0.3 ± 0.5	0.7 ± 0.2	nd	1.5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
diazepam	1.0	2.6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
oxazepam	895	1410	21	28	129 ± 20	206 ± 63	292	399	4.0	13	30 ± 15	61 ± 51	nd	3.6	12 ± 3.3	9.7 ± 7.6
lorazepam	21	54	nd	24	6.1 ± 1	25 ± 6	nd	21	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
clonazepam	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
meprobamate	306	155	47	67	59 ± 6	74 ± 11	50	27	nd	nd	6.1 ± 6.2	7.4 ± 7.6	nd	nd	0.5 ± 0.4	0.7 ± 0.4
ketoprofen	567	422	16	7.7	33 ± 18	28 ± 13	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
naproxen	791	573	6.2	8.9	35 ± 27	60 ± 32	141	29	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
diclofenac	785	906	20	19	78 ± 14	98 ± 47	308	353	nd	nd	nd	52 ± 55	nd	nd	0.9 ± 0.9	2 ± 2.9
ibuprofen	460	131	8.4	4.1	14 ± 10	10 ± 7	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2-hydroxy-ibuprofen	2409	977	12	24	99 ± 102	171 ± 89	797	132	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
paracetamol	863	nd	146	nd	99 ± 56	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
gemfibrozil	39	41	0.9	0.3	2.1 ± 1.1	6.1 ± 3.6	9.1	16	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
bezafibrate	496	341	11	9.3	34 ± 12	48 ± 15	81	50	nd	nd	1.7 ± 1.8	7.8 ± 7.9	nd	nd	nd	nd
4-chlorobenzoic acid	32	35	5.5	nd	15 ± 2	88 ± 170	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
fenofibric acid	1954	2620	8.1	0.5	79 ± 52	82 ± 75	616	492	nd	nd	10 ± 12	18 ± 24	nd	0.3	nd	0.9 ± 1.4
clofibrac acid	nd	nd	8	11	5.8 ± 0.6	9.3 ± 1.1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
pravastatin	86	140	nd	nd	3.5 ± 3.6	8.8 ± 6.5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
atorvastatin	5.7	4.4	nd	nd	nd	nd	59	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
atenolol	819	654	9.4	4.5	81 ± 23	82 ± 27	152	102	nd	nd	4.4 ± 6.6	nd	nd	nd	nd	nd
bisoprolol	328	359	3.3	2.9	29 ± 11	45 ± 14	42	68	1.6	1.9	7.6 ± 3.6	14 ± 12	nd	1.1	1.2 ± 0.8	3.5 ± 3.9
metoprolol	117	172	2.4	2.9	17 ± 3	24 ± 8	21	34	nd	nd	5.3 ± 2.1	7.3 ± 7.0	nd	1.0	1.2 ± 0.8	1.7 ± 1.8
propranolol	370	646	7.8	6.4	66 ± 13	76 ± 36	285	502	19	37	160 ± 70	148 ± 125	0.15	10.0	28 ± 21	50 ± 59
sotalol	1767	2931	37	51	199 ± 27	438 ± 142	178	605	nd	nd	28 ± 13	80 ± 68	nd	2.7	3.9 ± 2.7	7.4 ± 8.2
timolol	11	16	0.2	nd	1.2 ± 0.3	1.9 ± 0.6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
acebutolol	445	420	9.5	7.5	60 ± 19	60 ± 18	112	66	6.7	10	36 ± 14	35 ± 28	0.10	2.6	7.8 ± 5.8	9.3 ± 8.7
imipramine	1.3	1.8	0.2	nd	0.3 ± 0.3	0.3 ± 0.2	4.7	8.4	nd	nd	1.0 ± 0.4	1.3 ± 1.3	nd	0.1	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.2
doxepin	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

amitriptyline	18	25	nd	nd	2 ± 0.8	2.5 ± 1.6	50	192	2.3	5.3	23 ± 9	21 ± 16	nd	0.9	3.8 ± 3.8	7.2 ± 8.2
fluoxetine	14	18	nd	nd	1.7 ± 0.7	1.9 ± 1.2	98	163	4.9	2.6	31 ± 11	33 ± 32	nd	0.8	5.6 ± 4.9	10 ± 11
primidone	56	190	nd	9.7	5 ± 1.3	39 ± 17	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
carbamazepine	533	817	8.4	16	73 ± 11	151 ± 49	107	155	2.5	2.9	7.4 ± 3.2	19 ± 18	nd	1.3	2 ± 1.6	2.7 ± 2.6
cetirizine	434.1	465.1	12	11	53 ± 8	73 ± 19	130	135	5.4	5.9	22 ± 9	26 ± 23	nd	1.5	1.4 ± 1.5	7.3 ± 7.9
ranitidine	7.6	9.3	nd	1.4	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.4	nd	33	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
clenbuterol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
caffeine	1858	233	76	54	122 ± 86	99 ± 51	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.1	nd	17 ± 27
theophylline	4672	881	28	46	78 ± 55	166 ± 108	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	4.1 ± 2.3
sildenafil	3.9	4.9	nd	nd	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.6	nd	14	nd	nd	1.5 ± 1.1	nd	nd	0.2	0.9 ± 0.5	1.3 ± 1
losartan	127	202	3	1.4	24 ± 6	24 ± 8	3708	126	nd	nd	2.7 ± 2.6	nd	nd	nd	nd	nd
salbutamol	14	6.3	0.2	nd	1.2 ± 0.3	1.3 ± 0.2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
clopidogrel	13	18	0.5	0.4	2.6 ± 0.4	1.9 ± 0.8	9.1	21	nd	nd	1.2 ± 0.6	1.5 ± 1	nd	nd	0.1 ± 0.2	nd
terbutaline	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
disopyramide	241	493	3.3	6.2	23 ± 3	70 ± 32	84	277	3.3	6.3	19 ± 7	30 ± 20	nd	1.2	4 ± 3.4	6 ± 6.9

3.5 Water-Suspended Solids partitioning

Water concentrations of pharmaceuticals bound to suspended solid were calculated considering the suspended solid concentration, given for each sampling point in Supplementary Data #4. In wastewater effluents, contribution of suspended solids to its total contamination did not exceed 11 % (fluoxetine) with a median value of 0.5 % all molecules confounded. Dissolved phase of the wastewater effluent is the principal vector of contamination to the river. Furthermore, storage of the composite samples at 4 °C during 24 h can affect partitioning by shifting the equilibrium toward the particles, as the partition coefficient (K_d) was found to be inversely correlated with temperature (Bergen *et al.*, 1993; Smith and McLachlan, 2006). Indeed, the contribution of suspended solids to total contamination determined above is assumed to be a maximum value.

In the river after discharge, the average percentage of analyte bound to suspended solids is given for the two campaigns on the 21 molecules detected in both aqueous phase and SS (Fig 5).

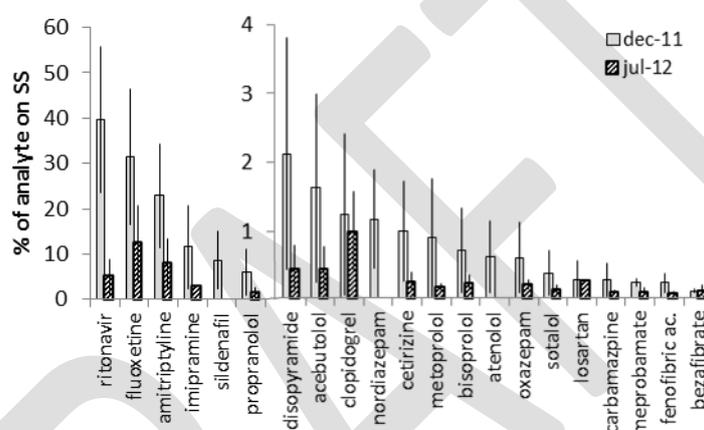


Fig 5. Average percentage of analyte bound to suspended solids downstream WWTP discharge point. n=5. Sildenafil, nordiazepam and atenolol were not detected in SS in July 12.

Sorption of most of the analytes was < 5 % in the two campaigns, in agreement with the observations of the study by Silva *et al.* (2011), reporting that 70 % of the 43 pharmaceuticals measured were predominantly detected in aqueous phase. The antidepressants amitriptyline, fluoxetine and imipramine exhibited high sorption to SS, as well as ritonavir, sildenafil and propranolol. High sorption of antidepressant drugs and sildenafil to SS, attributed to their non polar properties, have been reported by Baker and Kasprzyk-Hordern (2011a) in WWTP influents. Their higher maximum proportions measured (fluoxetine 74 %, amitriptyline 50 %) was possibly due to the difference in the nature of particulate matter. Batch sorption studies performed by Ramil *et al.* (2010) estimated that an average value of 25 mg.L⁻¹ SS, close to the value measured in Jalle de Blanquefort, led to less than 0.1 % of β -blockers sorbed to SS. Nevertheless, all β -blockers in all SS samples of our study are found bound to particulate matter with higher proportions, possibly because of differences in SS composition.

To our knowledge, this is the first evaluation of the hydrophobicity of ritonavir in natural waters.

The proportion of all analytes on SS is greater in december than in july. This seasonal pattern was accounted for the difference in water temperature (from 12 to 24 °C), as it has already been observed for hydrophobic compounds (Smith and McLachlan, 2006).

The partition coefficient ($\log K_d$) between aqueous phase and SS has been calculated for the december campaign as the average of the individual partition coefficients measured at each downstream point (Fig 6).

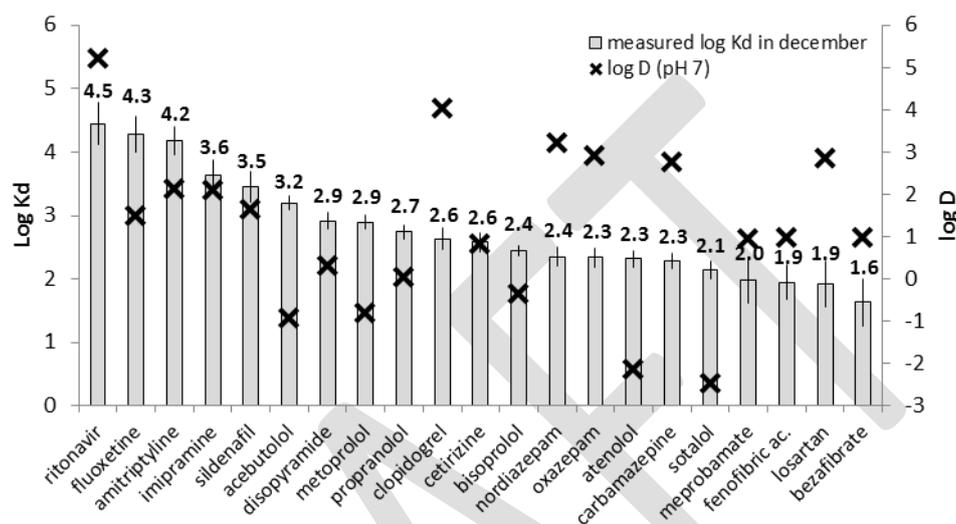


Fig 6. Average partition coefficients between the aqueous phase and SS at the sampling points downstream the WWTP discharge and octanol-water partition coefficient adjusted to pH 7 ($\log D$ pH 7).

No clear relationship was established between partition coefficients and octanol-water partition coefficients, as some molecules with $\log D < 0$ (acebutolol, $\log D = -0.95$) have higher $\log K_d$ than molecules supposed to be more hydrophobic (carbamazepine, $\log D = 2.77$). According to Silva *et al.* (2011), compounds with basic characteristics, protonated under natural water pH, show higher tendency to bound to SS. This was observed for antidepressants (fluoxetine, amitriptyline, imipramine), β -blockers or disopyramide but do not explain ritonavir, sildenafil and clopidogrel affinity to the solid phase as they remain neutral at pH 7. Cation exchange processes were found to play a dominating role on the overall adsorption of β -blockers to natural sediments (Schaffer *et al.*, 2012). Quantitative structural activity models are interesting tools to predict sorption to sludge or SS. The study of Sathyamoorthy and Ramsburg (2013) to understand the parameters governing sorption of pharmaceuticals in biological treatment processes emphasized on the dissociation and the resulting charge of molecules as parameters of particular importance on K_d prediction. However, the authors suggested that specific characteristics of the sorbing material like its composition (organic content, carbohydrates, proteins...) are required to improve the prediction of sorption properties from molecular structure.

3.6 Sediment contamination

Concentrations of pharmaceuticals in the sediments were lower than those measured in the SS and ranged from the MDL to 50 ng.g⁻¹ dry weight. Among detected pharmaceuticals, β -blockers (especially propranolol), antidepressants, caffeine, oxazepam, cetirizine and disopyramide exhibited highest concentrations. Fluoxetine was measured at similar concentrations (≈ 10 ng.g⁻¹ dry weight) in river bed sediments from Colorado, USA, stream water concentration being slightly superior than Jalle de Blanquefort water concentration (Schultz *et al.*, 2010). β -blocker concentrations in sediments of heavily wastewater impacted German rivers were evaluated between 2 to 86 ng.g⁻¹ dry weight and mainly around 20-30 ng.g⁻¹ dry weight (Ramil *et al.*, 2010). The authors precised that more than 50 % of the river flow could be composed of wastewater effluent, explaining the higher concentrations found in their study. In a multiclass monitoring by Stewart *et al.* (2014), global contamination levels of marine sediments from Auckland Bay, New Zealand, were found to be lower than Jalle de Blanquefort river concentrations, even if paracetamol, naproxen, ranitidine, clenbuterol, timolol and salbutamol, undetected in our study, were quantified in the low nanogram per gram level.

Standard deviations (given in Table 3) of the concentrations in the 5 sampling points after discharge were high, representing around 100 % of the mean concentrations. The granulometric characteristics of the sediments, measured by laser diffraction analysis (Supplementary Data #5), revealed important discrepancies between the samples and could account for the pharmaceutical concentration variabilities. The mud percentage (cumulated percentage of elements smaller than 63 μ m), ranging from 3 % to 82 %, has been used to calculate the mud pharmaceutical concentrations. Longitudinal profiles of carbamazepine and amitriptyline in sediment and in sediment mud are given Fig 7.

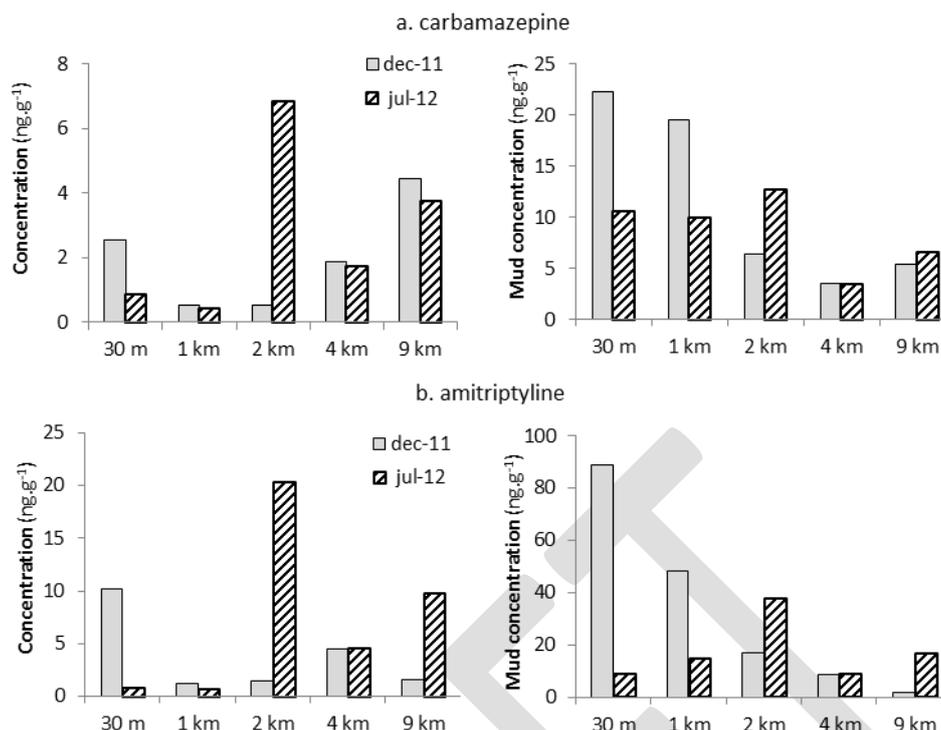


Fig 7. Carbamazepine and amitriptyline profiles after discharge in sediment and in sediment mud.

While concentrations of analytes after discharge appeared to be random regarding the total sediment concentration, pharmaceutical mud concentrations revealed a progressive attenuation along the river with highest concentrations in mud measured close to the discharge point (30 m), especially in the december 2011 campaign. These results suggested that high contents in fine elements composing sediments are relevant to explain the sorption properties of the overall material. Similar sediment pharmaceutical concentrations were observed in the Ebro river basin, Spain (Silva *et al.*, 2011) and the authors noted that the highest total concentrations of pharmaceuticals were measured at sites in proximity to WWTPs and with high sediment organic carbon content. High organic carbon content as well as small particle size distribution were also reported to favor sorption of β -blockers in the batch partition study conducted by Ramil *et al.* (2010).

No clear influence of season was noticeable prior to mud normalization. Close to the discharge point, sediments collected in the december campaign exhibited higher mud concentrations than the one collected in July but a possible seasonality of sediment contamination requires further investigations.

4 Conclusion

The protocol developed for the analysis of 53 pharmaceuticals in aqueous and solid matrices was found to be accurate, repeatable and sensitive. Subnanogram per litre MDLs are suitable for the study of occurrence and fate of pharmaceuticals in dilute environments like transitional waters.

Preparative steps, especially reconcentration and transfer to injection vials, are responsible for an average 40 % loss of analytes. However, the use of 32 internal standards compensate these loss and increase the robustness of the protocol. Analytical methods have been successfully applied to various environmental samples.

In the studied urban hydrosystem, WWTP effluent was the main contributor of pharmaceuticals to the river contamination, with an average 7 fold increase in analyte river concentrations after discharge. Sorption was assessed on river SS revealing that aqueous phase was the main vector of contamination for most of the analytes. Ritonavir affinity to SS was evaluated for the first time. This compound, amitriptyline, fluoxetine, imipramine, sildenafil and propranolol were bound to SS in a significant proportion, increasing with lower water temperature. Besides, low SS concentrations were measured in Jalle de Blanquefort ($\approx 20 \text{ mg.L}^{-1}$). In much turbid environments like in estuaries, where suspended solids can reach 10 g.L^{-1} in the maximum turbidity zone, the percentage of pharmaceuticals sorbed to SS is expected to be much higher. Sediment contamination was lower than for SS, the highest concentrations measured on sediment were attributed to its fine element proportion. Consistently with previous observations, log D was not a good descriptor of the analyte affinity to SS and sediment.

While pharmaceuticals in aqueous phase can undergo degradation in the water body (Benotti and Brownawell, 2007), further investigations on the potential higher stability of pharmaceuticals bound to particles are required.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Etiage program (Agence de l'Eau Adour-Garonne, the CUB (Communauté Urbaine de Bordeaux) and Lyonnaise des Eaux), the Aquitaine Region and the European Union (CPER A2E project) for their financial support. Europe is moving in Aquitaine with the European Regional Development Fund. This study has been carried out in the framework of the Cluster of Excellence COTE.

Bibliographic references

Ashton, D., Hilton, M., Thomas, K.V., 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci. Total Environ.* 333, 167–184.

Azzouz, A., Ballesteros, E., 2012. Combined microwave-assisted extraction and continuous solid-phase extraction prior to gas chromatography–mass spectrometry determination of pharmaceuticals, personal care products and hormones in soils, sediments and sludge. *Sci. Total Environ.* 419, 208–215.

Baker, D.R., Kasprzyk-Hordern, B., 2011a. Multi-residue determination of the sorption of illicit drugs and pharmaceuticals to wastewater suspended particulate matter using pressurised liquid extraction, solid phase extraction and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1218, 7901–7913.

Baker, D.R., Kasprzyk-Hordern, B., 2011b. Critical evaluation of methodology commonly used in sample collection, storage and preparation for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface water and wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1218, 8036–8059.

Baker, D.R., Kasprzyk-Hordern, B., 2013. Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals and illicit drugs in the aqueous environment and during wastewater treatment: New developments. *Sci. Total Environ.* 454–455, 442–456.

Bayen, S., Zhang, H., Desai, M.M., Ooi, S.K., Kelly, B.C., 2013. Occurrence and distribution of pharmaceutically active and endocrine disrupting compounds in Singapore's marine environment: Influence of hydrodynamics and physical-chemical properties. *Environ. Pollut.* 182, 1–8.

Benotti, M.J., Brownawell, B.J., 2007. Distributions of Pharmaceuticals in an Urban Estuary during both Dry- and Wet-Weather Conditions. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5795–5802.

Bergen, B.J., Nelson, W.G., Pruell, R.J., 1993. Partitioning of polychlorinated biphenyl congeners in the seawater of New Bedford Harbor, Massachusetts. *Environ. Sci. Technol.* 27, 938–942.

Bielicka-Daszkiwicz, K., Voelkel, A., 2009. Theoretical and experimental methods of determination of the breakthrough volume of SPE sorbents. *Talanta* 80, 614–621.

Bones, J., Thomas, K., Nesterenko, P.N., Paull, B., 2006. On-line preconcentration of pharmaceutical residues from large volume water samples using short reversed-phase monolithic cartridges coupled to LC-UV-ESI-MS. *Talanta* 70, 1117–1128.

Burke, V., Treumann, S., Duennbier, U., Greskowiak, J., Massmann, G., 2013. Sorption behavior of 20 wastewater originated micropollutants in groundwater - Column experiments with pharmaceutical residues and industrial agents. *J. Contam. Hydrol.* 154, 29–41.

Camel, V., 2000. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *TrAC Trends Anal. Chem.* 19, 229–248.

Chenxi, W., Spongberg, A.L., Witter, J.D., 2008. Determination of the persistence of pharmaceuticals in biosolids using liquid-chromatography tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 73, 511–518.

Daughton, C.G., Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environ. Health Perspect.* 107, 907–938.

Fatta-Kassinos, D., Meric, S., Nikolaou, A., 2011. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: Current state of knowledge and future research. *Anal. Bioanal. Chem.* 399, 251–275.

Gabet-Giraud, V., Miège, C., Choubert, J.M., Ruel, S.M., Coquery, M., 2010. Occurrence and removal of estrogens and beta blockers by various processes in wastewater treatment plants. *Sci. Total Environ.* 408, 4257–4269.

Gómez, M.J., Petrović, M., Fernández-Alba, A.R., Barceló, D., 2006. Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *J. Chromatogr. A* 1114, 224–233.

González Alonso, S., Catalá, M., Maroto, R.R., Gil, J.L.R., de Miguel, Á.G., Valcárcel, Y., 2010. Pollution by psychoactive pharmaceuticals in the Rivers of Madrid metropolitan area (Spain). *Environ. Int.* 36, 195–201.

Gros, M., Petrović, M., Barceló, D., 2006. Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70, 678–690.

Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Ventura, F., 2010. Fast liquid chromatography–quadrupole-linear ion trap mass spectrometry for the analysis of pharmaceuticals and hormones in water resources. *J. Chromatogr. A* 1217, 4212–4222.

Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2008. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res.* 42, 3498–3518.

Kunkel, U., Radke, M., 2012. Fate of pharmaceuticals in rivers: Deriving a benchmark dataset at favorable attenuation conditions. *Water Res.* 46, 5551–5565.

Lajeunesse, A., Smyth, S.A., Barclay, K., Sauvé, S., Gagnon, C., 2012. Distribution of antidepressant residues in wastewater and biosolids following different treatment processes by municipal wastewater treatment plants in Canada. *Water Res.* 46, 5600–5612.

Lee, J., Jang, E.-S., Kim, B., 2013. Development of isotope dilution-liquid chromatography/mass spectrometry combined with standard addition techniques for the accurate determination of tocopherols in infant formula. *Anal. Chim. Acta* 787, 132–139.

López-Serna, R., Pérez, S., Ginebreda, A., Petrović, M., Barceló, D., 2010. Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction–liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. *Talanta* 83, 410–424.

Madej, K., 2009. Microwave-assisted and cloud-point extraction in determination of drugs and other bioactive compounds. *TrAC Trends Anal. Chem.* 28, 436–446.

Martin Ruel, S., Esperanza, M., Choubert, J.-M., Valor, I., Budzinski, H., Coquery, M., 2010. On-site evaluation of the efficiency of conventional and advanced secondary processes for the removal of 60 organic micropollutants. *Water Sci. Technol.* 62, 2970–2978.

Prasse, C., Schlüsener, M.P., Schulz, R., Ternes, T.A., 2010. Antiviral Drugs in Wastewater and Surface Waters: A New Pharmaceutical Class of Environmental Relevance? *Environ. Sci. Technol.* 44, 1728–1735.

Quintana, J.B., Miro, M., Estela, J.M., Cerdà, V., 2006. Automated on-line renewable solid-phase extraction-liquid chromatography exploiting multisyringe flow injection-bead injection lab-on-valve analysis. *Anal. Chem.* 78, 2832–2840.

Quintana, J.B., Weiss, S., Reemtsma, T., 2005. Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Res.* 39, 2654–2664.

Ramil, M., El Aref, T., Fink, G., Scheurer, M., Ternes, T.A., 2010. Fate of Beta Blockers in Aquatic-Sediment Systems: Sorption and Biotransformation. *Environ. Sci. Technol.* 44, 962–970.

Rodil, R., Quintana, J.B., Concha-Graña, E., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D., 2012. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). *Chemosphere* 86, 1040–1049.

Rosal, R., Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J.A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M.J., Agüera, A., Fernández-Alba, A.R., 2010. Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. *Water Res.* 44, 578–588.

Sanchez-Prado, L., Garcia-Jares, C., Llompарт, M., 2010. Microwave-assisted extraction: Application to the determination of emerging pollutants in solid samples. *J. Chromatogr. A* 1217, 2390–2414.

Santos, L.H.M.L.M., Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S., Delerue-Matos, C., Pena, A., Barceló, D., Montenegro, M.C.B.S.M., 2013. Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Sci. Total Environ.* 461-462, 302–316.

Sathyamoorthy, S., Ramsburg, C.A., 2013. Assessment of quantitative structural property relationships for prediction of pharmaceutical sorption during biological wastewater treatment. *Chemosphere* 92, 639–646.

Schaffer, M., Börnick, H., Nödler, K., Licha, T., Worch, E., 2012. Role of cation exchange processes on the sorption influenced transport of cationic β -blockers in aquifer sediments. *Water Res.* 46, 5472–5482.

Schultz, M.M., Furlong, E.T., Kolpin, D.W., Werner, S.L., Schoenfuss, H.L., Barber, L.B., Blazer, V.S., Norris, D.O., Vajda, A.M., 2010. Antidepressant Pharmaceuticals in Two U.S. Effluent-Impacted Streams: Occurrence and Fate in Water and Sediment, and Selective Uptake in Fish Neural Tissue. *Environ. Sci. Technol.* 44, 1918–1925.

Silva, B.F. da, Jelic, A., López-Serna, R., Mozeto, A.A., Petrovic, M., Barceló, D., 2011. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. *Chemosphere* 85, 1331–1339.

Smith, K.E.C., McLachlan, M.S., 2006. Concentrations and partitioning of polychlorinated biphenyls in the surface waters of the southern Baltic Sea - Seasonal effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 2569–2575.

Snow, D.D., Damon-Powell, T., Onanong, S., Cassada, D.A., 2013. Sensitive and simplified analysis of natural and synthetic steroids in water and solids using on-line solid-phase extraction and microwave-assisted solvent extraction coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry atmospheric pressure photoionization. *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 1759–1771.

Stewart, M., Olsen, G., Hickey, C.W., Ferreira, B., Jelić, A., Petrović, M., Barcelo, D., 2014. A survey of emerging contaminants in the estuarine receiving environment around Auckland, New Zealand. *Sci. Total Environ.* 468–469, 202–210.

Teerlink, J., Hering, A.S., Higgins, C.P., Drewes, J.E., 2012. Variability of trace organic chemical concentrations in raw wastewater at three distinct sewershed scales. *Water Res.* 46, 3261–3271.

Ternes, T.A., Andersen, H., Gilberg, D., Bonerz, M., 2002. Determination of estrogens in sludge and sediments by liquid extraction and GC/MS/MS. *Anal. Chem.* 74, 3498–3504.

Togola, A., Budzinski, H., 2008. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 1177, 150–158.

Vulliet, E., Cren-Olivé, C., 2011. Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. *Environ. Pollut.* 159, 2929–2934.

Références bibliographiques

- Abou Mrad, N., 2011. Développements méthodologiques pour l'échantillonnage et l'analyse des hydrocarbures dans les systèmes aquatiques : application dans des expérimentations en conditions semi-contrôlées et dans le milieu environnemental. Université Bordeaux 1.
- Abril, G., Etcheber, H., Hir, P.L., Bassoullet, P., Boutier, B., Frankignoulle, M., 1999. Oxic/anoxic oscillations and organic carbon mineralization in an estuarine maximum turbidity zone (The Gironde, France). *Limnol. Oceanogr.* 44, 1304–1315.
- AFSSAPS, 2012. Etat des lieux de la consommation des benzodiazépines en France.
- Agilent Technologies, 2012. Agilent 6200 Series TOF and 6500 Series Q-TOF LC/MS System - Concepts guide.
- Allen, G.P., 1972. Etude des processus sédimentaires dans l'estuaire de la Gironde. Université de Bordeaux 1.
- Almeida, B., Oehmen, A., Marques, R., Brito, D., Carvalho, G., Barreto Crespo, M.T., 2013. Modelling the biodegradation of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) by activated sludge and a pure culture. *Bioresour. Technol.* 133, 31–37.
- Alvarez, D.A., Huckins, J.N., Petty, J.D., Jones-Lepp, T., Stuer-Lauridsen, F., Getting, D.T., Goddard, J.P., Gravell, A., 2007. Chapter 8 Tool for monitoring hydrophilic contaminants in water: polar organic chemical integrative sampler (POCIS), in: R. Greenwood, G.M. and B.V. (Ed.), *Comprehensive Analytical Chemistry, Passive Sampling Techniques in Environmental Monitoring*. Elsevier, pp. 171–197.
- Alvarez, D.A., Petty, J.D., Huckins, J.N., Jones-Lepp, T.L., Getting, D.T., Goddard, J.P., Manahan, S.E., 2004. Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 1640–1648.
- ANSM, 2012a. Analyse des ventes de médicaments en France en 2011.
- ANSM, 2012b. Dix ans d'évolution des consommations d'antibiotiques en France.
- Arrêté du 08/01/98, 1998. Arrêté du 08/01/98 fixant les prescriptions techniques applicables aux épandages de boues sur les sols agricoles pris en application du décret n° 97-1133 du 08/12/97 relatif à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées | AIDA.
- Ashton, D., Hilton, M., Thomas, K.V., 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci. Total Environ.* 333, 167–184.
- Azzouz, A., Ballesteros, E., 2012. Combined microwave-assisted extraction and continuous solid-phase extraction prior to gas chromatography–mass spectrometry determination of pharmaceuticals, personal care products and hormones in soils, sediments and sludge. *Sci. Total Environ.* 419, 208–215.
- Bachelot, M., Li, Z., Munaron, D., Le Gall, P., Casellas, C., Fenet, H., Gomez, E., 2012. Organic UV filter concentrations in marine mussels from French coastal regions. *Sci. Total Environ.* 420, 273–279.
- Baker, D.R., Kasprzyk-Hordern, B., 2011a. Multi-residue determination of the sorption of illicit drugs and pharmaceuticals to wastewater suspended particulate matter using pressurised liquid extraction, solid phase extraction and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1218, 7901–7913.
- Baker, D.R., Kasprzyk-Hordern, B., 2011b. Critical evaluation of methodology commonly used in sample collection, storage and preparation for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface water and wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1218, 8036–8059.

- Baker, D.R., Kasprzyk-Hordern, B., 2013. Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals and illicit drugs in the aqueous environment and during wastewater treatment: New developments. *Sci. Total Environ.* 454–455, 442–456.
- Balmer, M.E., Buser, H.-R., Müller, M.D., Poiger, T., 2005. Occurrence of Some Organic UV Filters in Wastewater, in Surface Waters, and in Fish from Swiss Lakes. *Environ. Sci. Technol.* 39, 953–962.
- Banzhaf, S., Krein, A., Scheytt, T., 2013. Using selected pharmaceutical compounds as indicators for surface water and groundwater interaction in the hyporheic zone of a low permeability riverbank. *Hydrol. Process.* 27, 2892–2902.
- Barclay, V.K.H., Tyrefors, N.L., Johansson, I.M., Pettersson, C.E., 2012. Trace analysis of fluoxetine and its metabolite norfluoxetine. Part II: Enantioselective quantification and studies of matrix effects in raw and treated wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1227, 105–114.
- Bayen, S., Zhang, H., Desai, M.M., Ooi, S.K., Kelly, B.C., 2013. Occurrence and distribution of pharmaceutically active and endocrine disrupting compounds in Singapore’s marine environment: Influence of hydrodynamics and physical-chemical properties. *Environ. Pollut.* 182, 1–8.
- Belfroid, A., Van der Horst, A., Vethaak, A., Schäfer, A., Rijs, G.B., Wegener, J., Cofino, W., 1999. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands. *Sci. Total Environ.* 225, 101–108.
- Belles, A., 2012. Développement et applications environnementales des échantillonneurs passifs pour la surveillance des écosystèmes aquatiques. Université Bordeaux 1.
- Belles, A., Pardon, P., Budzinski, H., 2013a. Development of an adapted version of polar organic chemical integrative samplers (POCIS-Nylon). *Anal. Bioanal. Chem.* 1–12.
- Belles, A., Tapie, N., Pardon, P., Budzinski, H., 2013b. Development of the performance reference compound approach for the calibration of “polar organic chemical integrative sampler” (POCIS).
- Benotti, M.J., Brownawell, B.J., 2007. Distributions of Pharmaceuticals in an Urban Estuary during both Dry- and Wet-Weather Conditions. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5795–5802.
- Benotti, M.J., Brownawell, B.J., 2009. Microbial degradation of pharmaceuticals in estuarine and coastal seawater. *Environ. Pollut.* 157, 994–1002.
- Bergen, B.J., Nelson, W.G., Pruell, R.J., 1993. Partitioning of polychlorinated biphenyl congeners in the seawater of New Bedford Harbor, Massachusetts. *Environ. Sci. Technol.* 27, 938–942.
- Besse, J.-P., Garric, J., 2007. Médicaments à usage humain : risque d’exposition et effets sur les milieux récepteurs.
- Bielicka-Daszkiwicz, K., Voelkel, A., 2009. Theoretical and experimental methods of determination of the breakthrough volume of SPE sorbents. *Talanta* 80, 614–621.
- Bones, J., Thomas, K., Nesterenko, P.N., Paull, B., 2006. On-line preconcentration of pharmaceutical residues from large volume water samples using short reversed-phase monolithic cartridges coupled to LC-UV-ESI-MS. *Talanta* 70, 1117–1128.
- Booij, K., Hofmans, H.E., Fischer, C.V., Van Weerlee, E.M., 2003. Temperature-dependent uptake rates of nonpolar organic compounds by semipermeable membrane devices and low-density polyethylene membranes. *Environ. Sci. Technol.* 37, 361–366.

-
- Booij, K., Smedes, F., 2010. An improved method for estimating in situ sampling rates of nonpolar passive samplers. *Environ. Sci. Technol.* 44, 6789–6794.
- Boxall, A.B.A., 2010. Veterinary medicines and the environment, in: *Handbook of Experimental Pharmacology*. Springer, pp. 291–314.
- Boxall, A.B.A., Rudd, M.A., Brooks, B.W., Caldwell, D.J., Choi, K., Hickmann, S., Innes, E., Ostapyk, K., Staveley, J.P., Verslycke, T., Ankley, G.T., Beazley, K.F., Belanger, S.E., Berninger, J.P., Carriquiriborde, P., Coors, A., DeLeo, P.C., Dyer, S.D., Ericson, J.F., Gagné, F., Giesy, J.P., Gouin, T., Hallstrom, L., Karlsson, M.V., Joakim Larsson, D.G., Lazorchak, J.M., Mastrocco, F., McLaughlin, A., McMaster, M.E., Meyerhoff, R.D., Moore, R., Parrott, J.L., Snape, J.R., Murray-Smith, R., Servos, M.R., Sibley, P.K., Straub, J.O., Szabo, N.D., Topp, E., Tetreault, G.R., Trudeau, V.L., Van Der Kraak, G., 2012. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What are the big questions? *Environ. Health Perspect.* 120, 1221–1229.
- Bradley, P.M., Barber, L.B., Kolpin, D.W., McMahan, P.B., Chapelle, F.H., 2007. Biotransformation of caffeine, cotinine, and nicotine in stream sediments: Implications for use as wastewater indicators. *Environ. Toxicol. Chem.* 26, 1116–1121.
- Briand, C., Changeux, T., Castelnaud, G., Baisez, A., De Casamajor, M.-N., 2004. Eel and stock fishery in France in 2003, Report of the ICES/EIFAC Working Group on eels, Appendix 2, p. 119-203. ICES.
- Brisolara, K.F., Qi, Y., 2011. Biosolids and sludge management. *Water Environ. Res.* 83, 1351–1375.
- Brodin, T., Fick, J., Jonsson, M., Klaminder, J., 2013. Dilute Concentrations of a Psychiatric Drug Alter Behavior of Fish from Natural Populations. *Science* 339, 814–815.
- Brooks, B.W., Chambliss, C.K., Stanley, J.K., Ramirez, A., Banks, K.E., Johnson, R.D., Lewis, R.J., 2005. Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 464–469.
- Buchberger, W.W., 2011. Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment. *J. Chromatogr. A* 1218, 603–618.
- Budzinski, H., Forget-Leray, J., Aït-Aïssa, S., 2012. MEDSEINE Etude de la contamination par les médicaments de l'estuaire de la Seine.
- Burke, V., Treumann, S., Duennbier, U., Greskowiak, J., Massmann, G., 2013. Sorption behavior of 20 wastewater originated micropollutants in groundwater - Column experiments with pharmaceutical residues and industrial agents. *J. Contam. Hydrol.* 154, 29–41.
- Buser, H.-R., Müller, M.D., Balmer, M.E., Poiger, T., Buerge, I.J., 2005. Stereoisomer composition of the chiral UV filter 4-methylbenzylidene camphor in environmental samples. *Environ. Sci. Technol.* 39, 3013–3019.
- Calisto, V., Domingues, M.R.M., Esteves, V.I., 2011. Photodegradation of psychiatric pharmaceuticals in aquatic environments – Kinetics and photodegradation products. *Water Res.* 45, 6097–6106.
- Camacho-Muñoz, D., Martín, J., Santos, J.L., Aparicio, I., Alonso, E., 2014. Occurrence of surfactants in wastewater: Hourly and seasonal variations in urban and industrial wastewaters from Seville (Southern Spain). *Sci. Total Environ.* 468–469, 977–984.
- Camel, V., 2000. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *TrAC Trends Anal. Chem.* 19, 229–248.
- Capdeville, M.-J., 2011. Etudes des cycles biogéochimiques des contaminants organiques dits « émergents » dans les systèmes aquatiques. Université Bordeaux 1.
-

- Castaing, P., Jouanneau, J.M., Prieur, D., Rangel-Davalos, C., Romaña, L.A., 1984. Variations spatio-temporelles de la granulométrie des suspensions de l'estuaire de la Gironde. *J. Rech. Océan.* 115–119.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., Pomati, F., Calamari, D., Zuccato, E., 2006. Removal of Pharmaceuticals in Sewage Treatment Plants in Italy. *Environ. Sci. Technol.* 40, 357–363.
- Celiz, M.D., Tso, J., Aga, D.S., 2009. Pharmaceutical metabolites in the environment: analytical challenges and ecological risks. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 2473.
- Cermola, M., DellaGreca, M., Iesce, M.R., Previtiera, L., Rubino, M., Temussi, F., Brigante, M., 2005. Phototransformation of fibrates drugs in aqueous media. *Environ. Chem. Lett.* 3, 43–47.
- CGEDD, 2010. Médicament et environnement - La régulation du médicament vis-à-vis du risque environnemental (No. 007058-01).
- Chaalali, A., Beaugrand, G., Boët, P., Sautour, B., 2013. Climate-Caused Abrupt Shifts in a European Macrotidal Estuary. *Estuaries Coasts* 36, 1193–1205.
- Chenxi, W., Spongberg, A.L., Witter, J.D., 2008. Determination of the persistence of pharmaceuticals in biosolids using liquid-chromatography tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 73, 511–518.
- Chong, N.-M., 2009. Modeling the acclimation of activated sludge to a xenobiotic. *Bioresour. Technol.* 100, 5750–5756.
- Choubert, J.M., Martin Ruel, S., Esperanza, M., Budzinski, H., Miège, C., Lagarrigue, C., Coquery, M., 2011a. Limiting the emissions of micro-pollutants: what efficiency can we expect from wastewater treatment plants? *Water Sci. Technol.* 63, 57.
- Choubert, J.M., Martin-Ruel, S., Budzinski, H., Miège, C., Esperanza, M., Soulier, C., Ugarrigue, C., Coquery, M., 2011b. Évaluer les rendements des stations d'épuration Apports méthodologiques et résultats pour les micropolluants en filières conventionnelles et avancées. *Tech. - Sci. - Methodes* 44–62.
- Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results., 2002. . *Off. J. Eur. Communities* L221 8–36.
- Commission européenne, 2001. Livre Blanc - Stratégie pour la future politique dans le domaine des substances chimiques (No. COM(2001) 88 final).
- Coquery, M., 2009. Le contrôle et la réduction des apports de substances chimiques vers les milieux aquatiques : Panorama des programmes en cours, en France et en Europe. *Tech. - Sci. - Methodes* 18–32.
- Coquery, M., Pomies, M., Martin-Ruel, S., Budzinski, H., Miegé, C., Esperanza, M., Soulier, C., Choubert, J.-M., 2011. Mesurer les micropolluants dans les eaux usées brutes et traitées - Protocoles et résultats pour l'analyse des concentrations et des flux. *Tech. - Sci. - Methodes* 25–43.
- Coutu, S., Wyrsh, V., Wynn, H.K., Rossi, L., Barry, D.A., 2013. Temporal dynamics of antibiotics in wastewater treatment plant influent. *Sci. Total Environ.* 458–460, 20–26.
- CUB, 2011. Rapport annuel d'activité - Service public de l'Eau potable et de l'Assainissement.
- D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A., Mancini, R., Mastropasqua, R., Nazzari, M., Samperi, R., 2003. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *Sci. Total Environ.* 302, 199–209.

- Danovaro, R., Bongiorno, L., Corinaldesi, C., Giovannelli, D., Damiani, E., Astolfi, P., Greci, L., Pusceddu, A., 2008. Sunscreens cause coral bleaching by promoting viral infections. *Environ. Health Perspect.* 116, 441–447.
- Daughton, C.G., Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environ. Health Perspect.* 107, 907–938.
- De Lange, H.J., Noordoven, W., Murk, A.J., Lürling, M., Peeters, E.T.H.M., 2006. Behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals. *Aquat. Toxicol.* 78, 209–216.
- Del Río, H., Suárez, J., Puertas, J., Ures, P., 2013. PPCPs wet weather mobilization in a combined sewer in NW Spain. *Sci. Total Environ.* 449.
- Díaz, R., Ibáñez, M., Sancho, J.V., Hernández, F., 2013. Qualitative validation of a liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry screening method for organic pollutants in waters. *J. Chromatogr. A* 1276, 47–57.
- Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., 2009. Chemical analysis and ecotoxicological effects of organic UV-absorbing compounds in aquatic ecosystems. *TrAC Trends Anal. Chem.* 28, 708–717.
- Du, B., Price, A.E., Scott, W.C., Kristofco, L.A., Ramirez, A.J., Chambliss, C.K., Yelderman, J.C., Brooks, B.W., 2014. Comparison of contaminants of emerging concern removal, discharge, and water quality hazards among centralized and on-site wastewater treatment system effluents receiving common wastewater influent. *Sci. Total Environ.* 466–467, 976–984.
- Duan, Y.-P., Meng, X.-Z., Wen, Z.-H., Ke, R.-H., Chen, L., 2013. Multi-phase partitioning, ecological risk and fate of acidic pharmaceuticals in a wastewater receiving river: The role of colloids. *Sci. Total Environ.* 447, 267–273.
- Dufour, V., 2013. Calibration et optimisation en laboratoire de l'échantillonneur passif "Polar Organic Chemical Integrative Sampler". Rapport de stage de M2.
- Enregistrement - ECHA [WWW Document], n.d. ECHA - Eur. Chem. Agency. URL <http://echa.europa.eu/fr/regulations/reach/registration> (accessed 10.28.13).
- Etcheber, H., 1983. Biogéochimie de la matière organique en milieu estuarien : Comportement, bilan, propriétés. Université de Bordeaux 1.
- Etcheber, H., Coupry, B., Coynel, A., Sauquet, N., 2013. 8.3 Disponibilité des eaux de surface, in: *Les Impacts Du Changement Climatique En Aquitaine*. Presses Universitaires de Bordeaux.
- Etcheber, H., Schmidt, S., Sottolichio, A., Maneux, E., Chabaux, G., Escalier, J.-M., Wennekes, H., Derriennic, H., Schmeltz, M., Quémener, L., Repecaud, M., Woerther, P., Castaing, P., 2011. Monitoring water quality in estuarine environments: lessons from the MAGEST monitoring program in the Gironde fluvial-estuarine system. *Hydrol Earth Syst Sci* 15, 831–840.
- Fatta-Kassinos, D., Méric, S., Nikolaou, A., 2011. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: Current state of knowledge and future research. *Anal. Bioanal. Chem.* 399, 251–275.
- Fent, K., Weston, A.A., Caminada, D., 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat. Toxicol.* 76, 122–159.
- Fent, K., Zenker, A., Rapp, M., 2010. Widespread occurrence of estrogenic UV-filters in aquatic ecosystems in Switzerland. *Environ. Pollut.* 158, 1817–1824.
- Fernández, C., González-Doncel, M., Pro, J., Carbonell, G., Tarazona, J.V., 2010. Occurrence of pharmaceutically active compounds in surface waters of the henares-jarama-tajo river system (madrid, spain) and a potential risk characterization. *Sci. Total Environ.* 408, 543–551.

- Fernández-Varela, R., Andrade, J.M., Muniategui, S., Prada, D., Ramírez-Villalobos, F., 2009. The comparison of two heavy fuel oils in composition and weathering pattern, based on IR, GC-FID and GC-MS analyses: Application to the Prestige wreckage. *Water Res.* 43, 1015–1026.
- Ferrer, I., Thurman, E.M., 2012. Analysis of 100 pharmaceuticals and their degradates in water samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1259, 148–157.
- Fitzhugh, R.D., Lovett, G.M., Venterea, R.T., 2003. Biotic and abiotic immobilization of ammonium, nitrite, and nitrate in soils developed under different tree species in the Catskill Mountains, New York, USA. *Glob. Change Biol.* 9, 1591–1601.
- Focazio, M.J., Kolpin, D.W., Barnes, K.K., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Thurman, M.E., 2008. A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States — II) Untreated drinking water sources. *Sci. Total Environ.* 402, 201–216.
- Gabet-Giraud, V., Miège, C., Choubert, J.M., Ruel, S.M., Coquery, M., 2010. Occurrence and removal of estrogens and beta blockers by various processes in wastewater treatment plants. *Sci. Total Environ.* 408, 4257–4269.
- Gago-Ferrero, P., Alonso, M.B., Bertozzi, C.P., Marigo, J., Barbosa, L., Cremer, M., Secchi, E.R., Azevedo, A., Lailson-Brito Jr., J., Torres, J.P.M., Malm, O., Eljarrat, E., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., 2013a. First determination of UV filters in marine mammals. octocrylene levels in Franciscana dolphins. *Environ. Sci. Technol.* 47, 5619–5625.
- Gago-Ferrero, P., Mastroianni, N., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., 2013b. Fully automated determination of nine ultraviolet filters and transformation products in natural waters and wastewaters by on-line solid phase extraction–liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1294, 106–116.
- Galvez, L., Hu, Y., Audic, J.M., Block, J.C., 1996. Cinétiques de biodégradation par boues activées de la matière organique soluble d'un effluent synthétique. *Rev. Sci. Eau* 9, 207.
- Gardner, M., Jones, V., Comber, S., Scrimshaw, M.D., Coello - Garcia, T., Cartmell, E., Lester, J., Ellor, B., 2013. Performance of UK wastewater treatment works with respect to trace contaminants. *Sci. Total Environ.* 456–457, 359–369.
- Giokas, D.L., Salvador, A., Chisvert, A., 2007. UV filters: From sunscreens to human body and the environment. *TrAC Trends Anal. Chem.* 26, 360–374.
- Gomes, R.L., Meredith, W., Snape, C.E., Sephton, M.A., 2009. Analysis of conjugated steroid androgens: Deconjugation, derivatisation and associated issues. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 49, 1133–1140.
- Gómez, M.J., Petrović, M., Fernández-Alba, A.R., Barceló, D., 2006. Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *J. Chromatogr. A* 1114, 224–233.
- González Alonso, S., Catalá, M., Maroto, R.R., Gil, J.L.R., de Miguel, Á.G., Valcárcel, Y., 2010. Pollution by psychoactive pharmaceuticals in the Rivers of Madrid metropolitan area (Spain). *Environ. Int.* 36, 195–201.
- Goodson, K.L., Pitt, R., Subramaniam, S., Clark, S., 2012. Evaluation of the treatability of pharmaceuticals, PAHs, and pesticides during wet weather flows in a wastewater treatment plant, in: *World Environmental and Water Resources Congress 2012: Crossing Boundaries, Proceedings of the 2012 Congress.* pp. 3594–3606.

- Gourlay, C., Tusseau-Vuillemin, M.-H., Garric, J., Mouchel, J.-M., 2003. Effect of dissolved organic matter of various origins and biodegradabilities on the bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 1288–1294.
- Gracia-Lor, E., Sancho, J.V., Hernández, F., 2010. Simultaneous determination of acidic, neutral and basic pharmaceuticals in urban wastewater by ultra high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1217, 622–632.
- Grenni, P., Patrolecco, L., Ademollo, N., Tolomei, A., Barra Caracciolo, A., 2013. Degradation of Gemfibrozil and Naproxen in a river water ecosystem. *Microchem. J.* 107, 158–164.
- Gromaire, M., Garnaud, S., Saad, M., Chebbo, G., 2001. Contribution of different sources to the pollution of wet weather flows in combined sewers. *Water Res.* 35, 521–533.
- Gros, M., Petrović, M., Barceló, D., 2006. Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70, 678–690.
- Haitzer, M., Höss, S., Traunspurger, W., Steinberg, C., 1999. Relationship between concentration of dissolved organic matter (DOM) and the effect of DOM on the bioconcentration of benzo[a]pyrene. *Aquat. Toxicol.* 45, 147–158.
- Hammond, P.B., Nisbet, L.C.T., Sarofim, A.F., 1972. Polychlorinated biphenyls - environmental impact. A review by the Panel on Hazardous Trace Substances, March 1972. *Environ. Res.* 5, 249–362.
- Harman, C., Tollefsen, K.-E., Bøyum, O., Thomas, K., Grung, M., 2008. Uptake rates of alkylphenols, PAHs and carbazoles in semipermeable membrane devices (SPMDs) and polar organic chemical integrative samplers (POCIS). *Chemosphere* 72, 1510–1516.
- Hass, U., Duennbier, U., Massmann, G., 2012. Occurrence and distribution of psychoactive compounds and their metabolites in the urban water cycle of Berlin (Germany). *Water Res.* 46, 6013–6022.
- Hollender, J., Singer, H., Mc Ardell, C.S., 2008. Polar Organic Micropollutants In The Water Cycle, in: Hlavinec, P., Bonacci, O., Marsalek, D.J., Mahrikova, I. (Eds.), *Dangerous Pollutants (Xenobiotics) in Urban Water Cycle*, NATO Science for Peace and Security Series. Springer Netherlands, pp. 103–116.
- Huerta, B., Rodríguez-Mozaz, S., Barceló, D., 2012. Pharmaceuticals in biota in the aquatic environment: Analytical methods and environmental implications. *Anal. Bioanal. Chem.* 404, 2611–2624.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Ventura, F., 2010. Fast liquid chromatography–quadrupole-linear ion trap mass spectrometry for the analysis of pharmaceuticals and hormones in water resources. *J. Chromatogr. A* 1217, 4212–4222.
- Hughes, S.R., Kay, P., Brown, L.E., 2013. Global synthesis and critical evaluation of pharmaceutical data sets collected from river systems. *Environ. Sci. Technol.* 47, 661–677.
- Hummel, D., Löffler, D., Fink, G., Ternes, T.A., 2006. Simultaneous Determination of Psychoactive Drugs and Their Metabolites in Aqueous Matrices by Liquid Chromatography Mass Spectrometry†. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7321–7328.
- Janjua, N.R., Kongshoj, B., Andersson, A.-M., Wulf, H.C., 2008. Sunscreens in human plasma and urine after repeated whole-body topical application. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 22, 456–461.

- Jeon, H.-K., Chung, Y., Ryu, J.-C., 2006. Simultaneous determination of benzophenone-type UV filters in water and soil by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1131, 192–202.
- Jeon, J., Kurth, D., Hollender, J., 2013. Biotransformation Pathways of Biocides and Pharmaceuticals in Freshwater Crustaceans Based on Structure Elucidation of Metabolites Using High Resolution Mass Spectrometry. *Chem. Res. Toxicol.* 26, 313–324.
- Jouanneau, J.M., Latouche, C., 1981. The Gironde Estuary. Fürchtbauer H Lisitzyn AP Millerman JD Seibold E Eds *Contrib. Sedimentol. E Schweiz. Verlagsbuch-Handl. Stuttg.* 1–115.
- Kameda, Y., Kimura, K., Miyazaki, M., 2011. Occurrence and profiles of organic sun-blocking agents in surface waters and sediments in Japanese rivers and lakes. *Environ. Pollut.* 159, 1570–1576.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2008. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res.* 42, 3498–3518.
- Kattner, G., 1999. Storage of dissolved inorganic nutrients in seawater: poisoning with mercuric chloride. *Mar. Chem.* 67, 61–66.
- Kelly, W.R., MacDonald, B.S., Guthrie, W.F., 2008. Gravimetric Approach to the Standard Addition Method in Instrumental Analysis. 1. *Anal. Chem.* 80, 6154–6158.
- Kim, I., Yamashita, N., Tanaka, H., 2009. Performance of UV and UV/H₂O₂ processes for the removal of pharmaceuticals detected in secondary effluent of a sewage treatment plant in Japan. *J. Hazard. Mater.* 166, 1134–1140.
- Klosterhaus, S.L., Grace, R., Hamilton, M.C., Yee, D., 2013. Method validation and reconnaissance of pharmaceuticals, personal care products, and alkylphenols in surface waters, sediments, and mussels in an urban estuary. *Environ. Int.* 54, 92–99.
- Koch, B.P., Dittmar, T., 2006. From mass to structure: an aromaticity index for high-resolution mass data of natural organic matter. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20, 926–932.
- Kormos, J.L., Schulz, M., Ternes, T.A., 2011. Occurrence of Iodinated X-ray Contrast Media and Their Biotransformation Products in the Urban Water Cycle. *Environ. Sci. Technol.* 45, 8723–8732.
- Kosma, C.I., Lambropoulou, D.A., Albanis, T.A., 2014. Investigation of PPCPs in wastewater treatment plants in Greece: Occurrence, removal and environmental risk assessment. *Sci. Total Environ.* 466–467, 421–438.
- Kovalova, L., Siegrist, H., von Gunten, U., Eugster, J., Hagenbuch, M., Wittmer, A., Moser, R., McArdell, C.S., 2013. Elimination of Micropollutants during Post-Treatment of Hospital Wastewater with Powdered Activated Carbon, Ozone, and UV. *Environ. Sci. Technol.* 47, 7899–7908.
- Kumar, V., Johnson, A.C., Nakada, N., Yamashita, N., Tanaka, H., 2012. De-conjugation behavior of conjugated estrogens in the raw sewage, activated sludge and river water. *J. Hazard. Mater.* 227–228, 49–54.
- Kunisue, T., Wu, Q., Tanabe, S., Aldous, K.M., Kannan, K., 2010. Analysis of five benzophenone-type UV filters in human urine by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Anal. Methods* 2, 707–713.
- Kunkel, U., Radke, M., 2012. Fate of pharmaceuticals in rivers: Deriving a benchmark dataset at favorable attenuation conditions. *Water Res.* 46, 5551–5565.

- Kupper, T., Plagellat, C., Brändli, R.C., de Alencastro, L.F., Grandjean, D., Tarradellas, J., 2006. Fate and removal of polycyclic musks, UV filters and biocides during wastewater treatment. *Water Res.* 40, 2603–2612.
- l'Assurance Maladie, 2011. Consommation et dépenses de médicaments en France et en Europe : évolutions 2006-2009 (No. Point d'information 10 mars 2011).
- Labadie, P., Budzinski, H., 2005. Determination of Steroidal Hormone Profiles along the Jalle d'Eysines River (near Bordeaux, France). *Environ. Sci. Technol.* 39, 5113–5120.
- Lahti, M., Oikari, A., 2011. Microbial transformation of pharmaceuticals naproxen, bisoprolol, and diclofenac in aerobic and anaerobic environments. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 61, 202–210.
- Lajeunesse, A., Smyth, S.A., Barclay, K., Sauvé, S., Gagnon, C., 2012. Distribution of antidepressant residues in wastewater and biosolids following different treatment processes by municipal wastewater treatment plants in Canada. *Water Res.* 46, 5600–5612.
- Lanceleur, L., 2011. L'argent : sources, transfert et bioaccumulation - Cas du système fluvio-estuarien girondin. Université de Bordeaux 1.
- Lanoux, A., Etcheber, H., Schmidt, S., Sottolichio, A., Chabaud, G., Richard, M., Abril, G., 2013. Factors contributing to hypoxia in a highly turbid, macrotidal estuary (the Gironde, France). *Environ. Sci. Process. Impacts* 15, 585–595.
- Lapworth, D.J., Baran, N., Stuart, M.E., Ward, R.S., 2012. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environ. Pollut.* 163, 287–303.
- Lara-Martín, P.A., González-Mazo, E., Brownawell, B.J., 2011. Multi-residue method for the analysis of synthetic surfactants and their degradation metabolites in aquatic systems by liquid chromatography–time-of-flight-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1218, 4799–4807.
- Larsson, D.G.J., de Pedro, C., Paxeus, N., 2007. Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *J. Hazard. Mater.* 148, 751–755.
- Le Corre, K.S., Ort, C., Kateley, D., Allen, B., Escher, B.I., Keller, J., 2012. Consumption-based approach for assessing the contribution of hospitals towards the load of pharmaceutical residues in municipal wastewater. *Environ. Int.* 45, 99–111.
- Le Treut, H., Bernard, V., Cassou, C., Castège, I., Chaalali, A., Idier, D., Le Cozannet, G., Planton, S., Ribes, A., 2013. Du climat global au climat régional, in: *Les Impacts Du Changement Climatique En Aquitaine*. Presses Universitaires de Bordeaux.
- Lebert, F., Bieder, H., Turcq, S., 2012. Meprobamate withdrawal in a memory service. *Rev. Geriatr.* 37, 433–435.
- Lee, J., Jang, E.-S., Kim, B., 2013. Development of isotope dilution-liquid chromatography/mass spectrometry combined with standard addition techniques for the accurate determination of tocopherols in infant formula. *Anal. Chim. Acta* 787, 132–139.
- LEEM, 2012. Les entreprises du médicament en France - Bilan économique.
- Li, H., Helm, P.A., Paterson, G., Metcalfe, C.D., 2011. The effects of dissolved organic matter and pH on sampling rates for polar organic chemical integrative samplers (POCIS). *Chemosphere* 83, 271–280.
- Li, H., Vermeirssen, E.L.M., Helm, P.A., Metcalfe, C.D., 2010. Controlled field evaluation of water flow rate effects on sampling polar organic compounds using polar organic chemical integrative samplers. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 2461–2469.

- Li, W., Ma, Y., Guo, C., Hu, W., Liu, K., Wang, Y., Zhu, T., 2007. Occurrence and behavior of four of the most used sunscreen UV filters in a wastewater reclamation plant. *Water Res.* 41, 3506–3512.
- Lissalde, S., Mazzella, N., Fauvelle, V., Delmas, F., Mazellier, P., Legube, B., 2011. Liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method for thirty-three pesticides in natural water and comparison of performance between classical solid phase extraction and passive sampling approaches. *J. Chromatogr. A* 1218, 1492–1502.
- Liu, D., Lung, W.-S., Colosi, L.M., 2013. Effects of sorption kinetics on the fate and transport of pharmaceuticals in estuaries. *Chemosphere* 92, 1001–1009.
- Liu, Y.-S., Ying, G.-G., Shareef, A., Kookana, R.S., 2012. Occurrence and removal of benzotriazoles and ultraviolet filters in a municipal wastewater treatment plant. *Environ. Pollut.* 165, 225–232.
- Liu, Y.-S., Ying, G.-G., Shareef, A., Kookana, R.S., 2013. Degradation of Six Selected Ultraviolet Filters in Aquifer Materials Under Various Redox Conditions. *Groundw. Monit. Remediat.* n/a–n/a.
- López-Serna, R., Jurado, A., Vázquez-Suñé, E., Carrera, J., Petrović, M., Barceló, D., 2013. Occurrence of 95 pharmaceuticals and transformation products in urban groundwaters underlying the metropolis of Barcelona, Spain. *Environ. Pollut.* 174, 305–315.
- López-Serna, R., Pérez, S., Ginebreda, A., Petrović, M., Barceló, D., 2010. Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction–liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry. *Talanta* 83, 410–424.
- López-Serna, R., Petrović, M., Barceló, D., 2011. Development of a fast instrumental method for the analysis of pharmaceuticals in environmental and wastewaters based on ultra high performance liquid chromatography (UHPLC)–tandem mass spectrometry (MS/MS). *Chemosphere* 85, 1390–1399.
- Madej, K., 2009. Microwave-assisted and cloud-point extraction in determination of drugs and other bioactive compounds. *TrAC Trends Anal. Chem.* 28, 436–446.
- Maneux, E., Castaing, P., Chabaux, G., Etcheber, H., 2006. Réseau MAGEST, mesures automatisées pour la surveillance de la Gironde : rapport d'activité 2005.
- Martin Ruel, S., Esperanza, M., Choubert, J.-M., Valor, I., Budzinski, H., Coquery, M., 2010. On-site evaluation of the efficiency of conventional and advanced secondary processes for the removal of 60 organic micropollutants. *Water Sci. Technol.* 62, 2970–2978.
- Maruya, K.A., Vidal-Dorsch, D.E., Bay, S.M., Kwon, J.W., Xia, K., Armbrust, K.L., 2012. Organic contaminants of emerging concern in sediments and flatfish collected near outfalls discharging treated wastewater effluent to the Southern California Bight. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 2683–2688.
- Mazzella, N., Dubernet, J.-F., Delmas, F., 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. *J. Chromatogr. A* 1154, 42–51.
- Mazzella, N., Lissalde, S., Moreira, S., Delmas, F., Mazellier, P., Huckins, J.N., 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. *Environ. Sci. Technol.* 44, 1713–1719.
- Mesfioui, R., Love, N.G., Bronk, D.A., Mulholland, M.R., Hatcher, P.G., 2012. Reactivity and chemical characterization of effluent organic nitrogen from wastewater treatment plants determined by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Water Res.* 46, 622–634.

-
- Moreta, C., Tena, M.T., 2011. Determination of UV filters in packaging by focused ultrasonic solid–liquid extraction and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1218, 3392–3399.
- Morin, N., Camilleri, J., Cren-Olivé, C., Coquery, M., Miège, C., 2013. Determination of uptake kinetics and sampling rates for 56 organic micropollutants using “pharmaceutical” POCIS. *Talanta* 109, 61–73.
- Mouatassim-Souali, A., Tamisier-Karolak, S.L., Perdiz, D., Cargouet, M., Levi, Y., 2003. Validation of a quantitative assay using GC/MS for trace determination of free and conjugated estrogens in environmental water samples. *J. Sep. Sci.* 26, 105–111.
- Neff, J.M., 1979. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment. *Int. Rev. Gesamten Hydrobiol. Hydrogr.* 65, 898–898.
- Nieto, A., Peschka, M., Borrull, F., Pocurull, E., Marcé, R.M., Knepper, T.P., 2010. Phosphodiesterase type V inhibitors: Occurrence and fate in wastewater and sewage sludge. *Water Res.* 44, 1607–1615.
- Ort, C., Gujer, W., 2008. Sorption and high dynamics of micropollutants in sewers.
- Ort, C., Lawrence, M.G., Reungoat, J., Eaglesham, G., Carter, S., Keller, J., 2010a. Determining the fraction of pharmaceutical residues in wastewater originating from a hospital. *Water Res.* 44, 605–615.
- Ort, C., Lawrence, M.G., Reungoat, J., Mueller, J.F., 2010b. Sampling for PPCPs in Wastewater Systems: Comparison of Different Sampling Modes and Optimization Strategies. *Environ. Sci. Technol.* 44, 6289–6296.
- Ort, C., Lawrence, M.G., Rieckermann, J., Joss, A., 2010c. Sampling for pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and illicit drugs in wastewater systems: Are your conclusions valid? A critical review. *Environ. Sci. Technol.* 44, 6024–6035.
- Packer, J.L., Werner, J.J., Latch, D.E., McNeill, K., Arnold, W.A., 2003. Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, diclofenac, clofibric acid, and ibuprofen. *Aquat. Sci.* 65, 342–351.
- Pal, A., Gin, K.Y.-H., Lin, A.Y.-C., Reinhard, M., 2010. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Sci. Total Environ.* 408, 6062–6069.
- Parry, M.L., Canziani, O.F., Palutikof, J.P., van der Linden, P.J., Hanson, C.E., 2007. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.
- Phillips, P.J., Chalmers, A.T., Gray, J.L., Kolpin, D.W., Foreman, W.T., Wall, G.R., 2012. Combined sewer overflows: An environmental source of hormones and wastewater micropollutants. *Environ. Sci. Technol.* 46, 5336–5343.
- Plagellat, C., Kupper, T., Furrer, R., de Alencastro, L.F., Grandjean, D., Tarradellas, J., 2006. Concentrations and specific loads of UV filters in sewage sludge originating from a monitoring network in Switzerland. *Chemosphere* 62, 915–925.
- Plumb, R.S., Rainville, P.D., Potts, W.B., Castro-Perez, J.M., Johnson, K.A., Wilson, I.D., 2007. High-temperature ultra-performance liquid chromatography coupled to hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry applied to ibuprofen metabolites in human urine. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 21, 4079–4085.
- Plummer, D.H., Owens, N.J.P., Herbert, R.A., 1987. Bacteria-particle interactions in turbid estuarine environments. *Cont. Shelf Res.* 7, 1429–1433.
-

- Pomiès, M., Choubert, J.-M., Wisniewski, C., Coquery, M., 2013. Modelling of micropollutant removal in biological wastewater treatments: A review. *Sci. Total Environ.* 443, 733–748.
- Prasse, C., Schlüsener, M.P., Schulz, R., Ternes, T.A., 2010. Antiviral Drugs in Wastewater and Surface Waters: A New Pharmaceutical Class of Environmental Relevance? *Environ. Sci. Technol.* 44, 1728–1735.
- Priority Substances and Certain Other Pollutants according to Annex II of Directive 2008/105/EC - Environment - European Commission [WWW Document], n.d. URL http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/priority_substances.htm (accessed 10.28.13).
- Quintana, J.B., Miro, M., Estela, J.M., Cerdà, V., 2006. Automated on-line renewable solid-phase extraction-liquid chromatography exploiting multisyringe flow injection-bead injection lab-on-valve analysis. *Anal. Chem.* 78, 2832–2840.
- Quintana, J.B., Weiss, S., Reemtsma, T., 2005. Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Res.* 39, 2654–2664.
- Radjenović, J., Petrović, M., Barceló, D., 2009. Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. *Water Res.* 43, 831–841.
- Ramil, M., El Aref, T., Fink, G., Scheurer, M., Ternes, T.A., 2010. Fate of Beta Blockers in Aquatic-Sediment Systems: Sorption and Biotransformation. *Environ. Sci. Technol.* 44, 962–970.
- Ravichandran, M., 2004. Interactions between mercury and dissolved organic matter—a review. *Chemosphere* 55, 319–331.
- Reddy, S., Iden, C.R., Brownawell, B.J., 2005. Analysis of Steroid Conjugates in Sewage Influent and Effluent by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 77, 7032–7038.
- Richardson, M.L., Bowron, J.M., 1985. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.* 37, 1–12.
- Rodil, R., Moeder, M., 2008a. Development of a method for the determination of UV filters in water samples using stir bar sorptive extraction and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1179, 81–88.
- Rodil, R., Moeder, M., 2008b. Development of a simultaneous pressurised-liquid extraction and clean-up procedure for the determination of UV filters in sediments. *Anal. Chim. Acta* 612, 152–159.
- Rodil, R., Moeder, M., Altenburger, R., Schmitt-Jansen, M., 2009. Photostability and phytotoxicity of selected sunscreen agents and their degradation mixtures in water. *Anal. Bioanal. Chem.* 395, 1513–1524.
- Rodil, R., Quintana, J.B., Concha-Graña, E., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D., 2012. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). *Chemosphere* 86, 1040–1049.
- Rodil, R., Quintana, J.B., Lopez-Mahia, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D., 2008. Multiclass Determination of Sunscreen Chemicals in Water Samples by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 80, 1307–1315.
- Rosal, R., Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J.A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M.J., Agüera, A., Fernández-Alba, A.R., 2010. Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. *Water Res.* 44, 578–588.

- Salgado, R., Marques, R., Noronha, J.P., Mexia, J.T., Carvalho, G., Oehmen, A., Reis, M.A.M., 2011. Assessing the diurnal variability of pharmaceutical and personal care products in a full-scale activated sludge plant. *Environ. Pollut.* 159, 2359–2367.
- Salles, D., Bernard, V., Dehez, J., Régnacq, P., Rocle, N., Vaucelle, 2013. Enjeux sociétaux : vulnérabilités face au changement climatique, in: *Les Impacts Du Changement Climatique En Aquitaine*. Presses Universitaires de Bordeaux.
- Sanchez, W., Sremski, W., Piccini, B., Palluel, O., Maillot-Maréchal, E., Betoulle, S., Jaffal, A., Aït-Aïssa, S., Brion, F., Thybaud, E., Hinfray, N., Porcher, J.-M., 2011. Adverse effects in wild fish living downstream from pharmaceutical manufacture discharges. *Environ. Int.* 37, 1342–1348.
- Sanchez-Prado, L., Garcia-Jares, C., Llompart, M., 2010. Microwave-assisted extraction: Application to the determination of emerging pollutants in solid samples. *J. Chromatogr. A* 1217, 2390–2414.
- Santos, J.L., Aparicio, I., Callejón, M., Alonso, E., 2009. Occurrence of pharmaceutically active compounds during 1-year period in wastewaters from four wastewater treatment plants in Seville (Spain). *J. Hazard. Mater.* 164, 1509–1516.
- Santos, L.H.M.L.M., Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S., Delerue-Matos, C., Pena, A., Barceló, D., Montenegro, M.C.B.S.M., 2013. Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Sci. Total Environ.* 461-462, 302–316.
- Sathyamoorthy, S., Ramsburg, C.A., 2013. Assessment of quantitative structural property relationships for prediction of pharmaceutical sorption during biological wastewater treatment. *Chemosphere* 92, 639–646.
- Schäfer, J., Blanc, G., Lapaquellerie, Y., Maillet, N., Maneux, E., Etcheber, H., 2002. Ten-year observation of the Gironde tributary fluvial system: fluxes of suspended matter, particulate organic carbon and cadmium. *Mar. Chem.* 79, 229–242.
- Schäfer, J., Norra, S., Klein, D., Blanc, G., 2009. Mobility of trace metals associated with urban particles exposed to natural waters of various salinities from the Gironde Estuary, France. *J. Soils Sediments* 9, 374–392.
- Schaffer, M., Börnick, H., Nödler, K., Licha, T., Worch, E., 2012. Role of cation exchange processes on the sorption influenced transport of cationic β -blockers in aquifer sediments. *Water Res.* 46, 5472–5482.
- Schlumpf, M., Kypke, K., Wittassek, M., Angerer, J., Mascher, H., Mascher, D., Vökt, C., Birchler, M., Lichtensteiger, W., 2010. Exposure patterns of UV filters, fragrances, parabens, phthalates, organochlor pesticides, PBDEs, and PCBs in human milk: Correlation of UV filters with use of cosmetics. *Chemosphere* 81, 1171–1183.
- Schramm, S., Carré, V., Scheffler, J.-L., Aubriet, F., 2011. Analysis of Mainstream and Sidestream Cigarette Smoke Particulate Matter by Laser Desorption Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 83, 133–142.
- Schultz, M.M., Furlong, E.T., Kolpin, D.W., Werner, S.L., Schoenfuss, H.L., Barber, L.B., Blazer, V.S., Norris, D.O., Vajda, A.M., 2010. Antidepressant Pharmaceuticals in Two U.S. Effluent-Impacted Streams: Occurrence and Fate in Water and Sediment, and Selective Uptake in Fish Neural Tissue. *Environ. Sci. Technol.* 44, 1918–1925.
- Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H., Negele, R.D., 2004. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 68, 141–150.

- Schwarzbauer, J., Littke, R., Weigelt, V., 2000. Identification of specific organic contaminants for estimating the contribution of the Elbe river to the pollution of the German Bight. *Org. Geochem.* 31, 1713–1731.
- Schwarzenbach, R.P., Escher, B.I., Fenner, K., Hofstetter, T.B., Johnson, C.A., Gunten, U. von, Wehrli, B., 2006. The Challenge of Micropollutants in Aquatic Systems. *Science* 313, 1072–1077.
- Silva, B.F. da, Jelic, A., López-Serna, R., Mozeto, A.A., Petrovic, M., Barceló, D., 2011. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. *Chemosphere* 85, 1331–1339.
- Sim, W.-J., Lee, J.-W., Lee, E.-S., Shin, S.-K., Hwang, S.-R., Oh, J.-E., 2011. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures. *Chemosphere* 82, 179–186.
- Smith, K.E.C., McLachlan, M.S., 2006. Concentrations and partitioning of polychlorinated biphenyls in the surface waters of the southern Baltic Sea - Seasonal effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 2569–2575.
- Snow, D.D., Damon-Powell, T., Onanong, S., Cassada, D.A., 2013. Sensitive and simplified analysis of natural and synthetic steroids in water and solids using on-line solid-phase extraction and microwave-assisted solvent extraction coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry atmospheric pressure photoionization. *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 1759–1771.
- Sottolichio, A., Castaing, P., 1999. A synthesis on seasonal dynamics of highly-concentrated structures in the Gironde estuary. *Comptes Rendus Académie Sci. - Ser. IIA - Earth Planet. Sci.* 329, 795–800.
- Soulier, C., 2012. Présence et devenir des alkylphénols, de leurs dérivés et des composés pharmaceutiques dans les effluents : intérêt des échantillonneurs passifs. Université Bordeaux 1.
- Soulier, C., gabet, V., Lardy, S., Lemenach, K., Pardon, P., Esperanza, M., Miège, C., Choubert, J.-M., Martin-Ruel, S., Bruchet, A., Coquery, M., Budzinski, H., 2011. Zoom sur les substances pharmaceutiques : présence, partition, devenir en station d'épuration. *Tech. - Sci. - Methodes* 63–77.
- Stasinakis, A.S., Thomaidis, N.S., Arvaniti, O.S., Asimakopoulos, A.G., Samaras, V.G., Ajibola, A., Mamais, D., Lekkas, T.D., 2013. Contribution of primary and secondary treatment on the removal of benzothiazoles, benzotriazoles, endocrine disruptors, pharmaceuticals and perfluorinated compounds in a sewage treatment plant. *Sci. Total Environ.* 463-464, 1067–1075.
- Stewart, M., Olsen, G., Hickey, C.W., Ferreira, B., Jelić, A., Petrović, M., Barcelo, D., 2014. A survey of emerging contaminants in the estuarine receiving environment around Auckland, New Zealand. *Sci. Total Environ.* 468–469, 202–210.
- Sunkara, M., Wells, M.J.M., 2010. Phase II pharmaceutical metabolites acetaminophen glucuronide and acetaminophen sulfate in wastewater. *Environ. Chem.* 7, 111–122.
- Tapie, N., 2006. Contamination des écosystèmes aquatiques par les PCB et PBDE : application à l'estuaire de la Gironde. Université Bordeaux 1.
- Teerlink, J., Hering, A.S., Higgins, C.P., Drewes, J.E., 2012. Variability of trace organic chemical concentrations in raw wastewater at three distinct sewershed scales. *Water Res.* 46, 3261–3271.

- Ter Laak, T.L., van der Aa, M., Houtman, C.J., Stoks, P.G., van Wezel, A.P., 2010. Relating environmental concentrations of pharmaceuticals to consumption: A mass balance approach for the river Rhine. *Environ. Int.* 36, 403–409.
- Ternes, T.A., Andersen, H., Gilberg, D., Bonerz, M., 2002. Determination of estrogens in sludge and sediments by liquid extraction and GC/MS/MS. *Anal. Chem.* 74, 3498–3504.
- The World Bank, 2009. World Development Report 2009 - Reshaping economic geography.
- Thomas, K.V., Dye, C., Schlabach, M., Langford, K.H., 2007. Source to sink tracking of selected human pharmaceuticals from two Oslo city hospitals and a wastewater treatment works. *J. Environ. Monit.* 9, 1410–1418.
- Tinwell, H., Lefevre, P.A., Moffat, G.J., Burns, A., Odum, J., Spurway, T.D., Orphanides, G., Ashby, J., 2002. Confirmation of uterotrophic activity of 3-(4-methylbenzylidene)camphor in the immature rat. *Environ. Health Perspect.* 110, 533–536.
- Togola, A., 2006. Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques. Université Bordeaux 1.
- Togola, A., Budzinski, H., 2007. Development of polar organic integrative samplers for analysis of pharmaceuticals in aquatic systems. *Anal. Chem.* 79, 6734–6741.
- Togola, A., Budzinski, H., 2008. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 1177, 150–158.
- Turner, A., 2003. Salting out of chemicals in estuaries: implications for contaminant partitioning and modelling. *Sci. Total Environ.* 314–316, 599–612.
- Turner, A., Millward, G.E., Le Roux, S.M., 2001. Sediment–Water Partitioning of Inorganic Mercury in Estuaries. *Environ. Sci. Technol.* 35, 4648–4654.
- Unceta, N., Sampedro, M.C., Bakar, N.K.A., Gómez-Caballero, A., Goicolea, M.A., Barrio, R.J., 2010. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in wastewaters by dual solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography electrospray ionization ion trap mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1217, 3392–3399.
- United Nations, 2012. World Urbanization Prospects, the 2011 Revision [WWW Document]. URL http://esa.un.org/unpd/wup/Analytical-Figures/Fig_1.htm (accessed 10.1.13).
- US EPA, 2007. Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS.
- Vanderford, B.J., Snyder, S.A., 2006. Analysis of Pharmaceuticals in Water by Isotope Dilution Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry†. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7312–7320.
- Vaubourdolle, M., 2007. Médicaments - Tome 4, Le Moniteur - Internat. Wolters Kluwer France.
- Vidal-Dorsch, D.E., Bay, S.M., Maruya, K., Snyder, S.A., Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., 2012. Contaminants of emerging concern in municipal wastewater effluents and marine receiving water. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 2674–2682.
- Vieno, N.M., Tuhkanen, T., Kronberg, L., 2005. Seasonal Variation in the Occurrence of Pharmaceuticals in Effluents from a Sewage Treatment Plant and in the Recipient Water. *Environ. Sci. Technol.* 39, 8220–8226.
- Vrana, B., Allan, I.J., Greenwood, R., Mills, G.A., Dominiak, E., Svensson, K., Knutsson, J., Morrison, G., 2005. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 24, 845–868.

- Vrana, B., Mills, G.A., Dominiak, E., Greenwood, R., 2006. Calibration of the Chemcatcher passive sampler for the monitoring of priority organic pollutants in water. *Environ. Pollut.* 142, 333–343.
- Vulliet, E., Cren-Olivé, C., 2011. Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. *Environ. Pollut.* 159, 2929–2934.
- Wang, C.-Y., Wang, F., Wang, T., Yang, X.-L., Bian, Y.-R., Kengara, F.O., Li, Z.-B., Jiang, X., 2011. Effects of Autoclaving and Mercuric Chloride Sterilization on PAHs Dissipation in a Two-Liquid-Phase Soil Slurry. *Pedosphere* 21, 56–64.
- Waters, 715001307, Rev. D. Controlling Contamination in UltraPerformance LC/MS and HPLC/MS System (Note d'application).
- Wick, A., Marincas, O., Moldovan, Z., Ternes, T.A., 2011. Sorption of biocides, triazine and phenylurea herbicides, and UV-filters onto secondary sludge. *Water Res.* 45, 3638–3652.
- Williot, P., Rouault, T., Rochard, E., Castelnaud, G., Lepage, M., Gonthier, P., Elie, P., 2004. French Attempts to Protect and Restore *Acipenser sturio* in the Gironde: Status and Perspectives, the Research Point of View. Cemagref Cestas.
- Wolf, D.C., Dao, T.H., Scott, H.D., Lavy, T.L., 1989. Influence of sterilization methods on selected soil microbiological, physical, and chemical properties. *J. Environ. Qual.* 18, 39–44.
- Writer, J.H., Antweiler, R.C., Ferrer, I., Ryan, J.N., Thurman, E.M., 2013. In-stream attenuation of neuro-active pharmaceuticals and their metabolites. *Environ. Sci. Technol.* 47, 9781–9790.
- Yamamoto, H., Nakamura, Y., Moriguchi, S., Nakamura, Y., Honda, Y., Tamura, I., Hirata, Y., Hayashi, A., Sekizawa, J., 2009. Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. *Water Res.* 43, 351–362.
- Ying, G.-G., Kookana, R.S., 2003. Degradation of Five Selected Endocrine-Disrupting Chemicals in Seawater and Marine Sediment. *Environ. Sci. Technol.* 37, 1256–1260.
- Ying, G.-G., Williams, B., Kookana, R., 2002. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates—a review. *Environ. Int.* 28, 215–226.
- Yu, Y., Wu, L., 2011. Comparison of four extraction methods for the analysis of pharmaceuticals in wastewater. *J. Chromatogr. A* 1218, 2483–2489.
- Yuan, S., Jiang, X., Xia, X., Zhang, H., Zheng, S., 2013. Detection, occurrence and fate of 22 psychiatric pharmaceuticals in psychiatric hospital and municipal wastewater treatment plants in Beijing, China. *Chemosphere* 90, 2520–2525.
- Zenker, A., Schmutz, H., Fent, K., 2008. Simultaneous trace determination of nine organic UV-absorbing compounds (UV filters) in environmental samples. *J. Chromatogr. A* 1202, 64–74.
- Zhao, X., Metcalfe, C.D., 2008. Characterizing and Compensating for Matrix Effects Using Atmospheric Pressure Chemical Ionization Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry: Analysis of Neutral Pharmaceuticals in Municipal Wastewater. *Anal. Chem.* 80, 2010–2017.
- Zhou, J., Broodbank, N., 2013. Sediment-water interactions of pharmaceutical residues in the river environment. *Water Res.*