Caractérisation de la contamination des systèmes aquatiques par les psychotropes : développement d'une méthode de référence incluant une démarche multifactorielle de hiérarchisation

Vincent Brieudes

▶ **To cite this version:**

Vincent Brieudes. Caractérisation de la contamination des systèmes aquatiques par les psychotropes : développement d'une méthode de référence incluant une démarche multifactorielle de hiérarchisation. Chimie analytique. Université de Bordeaux, 2014. Français. NNT : 2014BORD0034 . tel-01146795

HAL Id: tel-01146795

https://theses.hal.science/tel-01146795

Submitted on 29 Apr 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

université de BORDEAUX

THÈSE PRÉSENTÉE

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

SPÉCIALITÉ Chimie analytique de l'environnement

Par Vincent BRIEUDES

Caractérisation de la contamination des systèmes aquatiques par les psychotropes : développement d'une méthode de référence incluant une démarche multifactorielle de hiérarchisation

Sous la direction de : Hélène BUDZINSKI

Soutenue le 18 avril 2014

Membres du jury :

Mme. Hélène FENET	Professeur, Université Montpellier 1	Rapporteur
M. Yves LEVI	Professeur, Université Paris Sud 11	Rapporteur
M. Olivier LAPREVOTE	Professeur, Université Paris Descartes	Président du jury
M. Jérôme RANDON	Professeur, Université Lyon 1	Examinateur
M. Ian ALLAN	Docteur, NIVA, Oslo	Examinateur
M. Christophe ROSIN	Directeur de Recherche, ANSES, Nancy	Examinateur
Mme Gwenaelle LAVISON-BOMPARD	Docteur, Eau de Paris	Membre Invité
Mme Hélène BUDZINSKI	Directrice de Recherche, Université Bordeaux 1	Directrice de thèse
Mme Sophie LARDY-FONTAN	Docteur, LNE, Paris	Co-encadrante

à Léo, mon grand-père,

Remerciements

Ce manuscrit témoigne du travail réalisé durant cette thèse, travail qui n'aurait pas été le même sans l'aide de nombreuses personnes que je souhaiterais remercier.

En premier lieu, je souhaite remercier Sophie Lardy-Fontan, mon encadrante au LNE avec qui j'ai beaucoup appris tant sur le plan scientifique que professionnel. Merci pour son aide et sa disponibilité surtout pendant cette période un peu folle du grand sprint final de rédaction du manuscrit et de préparation de la soutenance. Je souhaite bien évidemment remercier Hélène Budzinski, ma directrice de thèse pour avoir encadré ces travaux et pour ces précieux conseils lors de nos échanges. Je souhaite tout naturellement remercier Béatrice Lalère et Sophie Vaslin-Reimann pour m'avoir permis de travailler au LNE. Merci à Julie Pedeluck et Yann Aminot sans qui les expériences de calibration des POCIS n'auraient pas pu être conduites. Merci également à Gwenaelle Lavison-Bompard, Patrick Candido, Guillaume Couturier et toutes les équipes d'Eau de Paris.

Un grand merci aussi à mes rapporteurs de thèse Hélène Fenet et Yves Lévi pour leur disponibilité et pour avoir accepté de faire un travail de synthèse et de critique de grande qualité. Je remercie aussi les autres membres du jury Olivier Laprévote, Jérôme Randon, Ian Allan, Christophe Rosin et Gwenaelle Lavison-Bompard pour leur temps et pour l'intérêt qu'ils ont porté à l'évaluation de mon travail donnant ainsi lieu à une soutenance de thèse dont je suis extrêmement fier.

Une thèse représente plus que trois ans de travail. C'est également, entre autre, trois ans de vie commune avec des personnes que je suis très heureux d'avoir rencontré. Ainsi, je remercie chaleureusement tous les collègues du LNE. Je pense notamment à Véronique Lediouron pour m'avoir fait partager toute son expérience. Merci à Maryline Peignaux, qui a toujours été là pour moi, disponible, pour apporter sa gentille aide quelque soit les circonstances. Merci à Caroline Oster pour sa gentillesse, sa bienveillance, sa sympathie, son humour. Je n'oublie pas Anaïs Rincel et Anne-Lyse Borlot et les bons moments passés ensemble dans ou en dehors du labo. Il y a aussi bien sûr Maud Heuillet, ma co-thésarde, avec qui une belle amitié est née depuis notre arrivée simultanée au LNE.

Je souhaite tout particulièrement remercier mes parents et mon frère. Merci pour leur soutien sans faille, pour leur écoute, pour leur compréhension et pour leur aide. Je ne trouve pas de mots assez forts pour leur exprimer mon amour.

Merci à tous mes amis et en particulier à Alex, Ben, Lolo et Emilie pour leur soutien, pour tous les bons moments passés à Paname, et ceux qui suivront ! Enfin merci à Cerise, qui a été complice jusqu'au dernier moment des rebondissements de ces trois années de thèse. Σ'ευχαριστώ για τα πάντα μπαμπε !

Résumé

Les résidus de médicaments font partie des polluants dits « émergents » pour lesquels il n'existe actuellement pas de réglementation quant à leur présence dans l'environnement. Afin d'anticiper un risque éventuel pour l'Homme et les milieux aquatiques il est, entre autres, nécessaire de réaliser un état des lieux de la contamination des systèmes aquatiques par ce type de micropolluants. Dans ce contexte, disposer de données de mesures de qualité (traçables et comparables) constitue un prérequis indispensable pour décider au mieux des politiques à conduire dans ce domaine. L'étude des psychotropes présente un enjeu important d'autant plus qu'il s'agit de molécules abondamment consommées.

Les travaux conduits lors de cette thèse avaient deux objectifs principaux. Le premier était de caractériser l'occurrence environnementale de composés psychotropes. Le second objectif était de proposer des outils métrologiques permettant d'assurer l'exactitude, la traçabilité, la comparabilité mais également la représentativité des résultats de mesure.

Dans un premier temps, une méthode multi-résidus par SPE-LC-MS^2 a été développée pour une sélection de composés psychotropes et d'autres médicaments de consommation courante. Les limites de quantification de la méthode étaient de l'ordre du $ng.L^{-1}$. Cela a permis de caractériser leur occurrence dans différents cours d'eau et rejets de station d'épuration en France. En parallèle, une approche par échantillonnage intégratif a été développée et déployée dans différents sites. Cette stratégie complémentaire a permis d'établir les niveaux d'occurrence des 68 psychotropes et traceurs sélectionnés et de conduire une démarche de hiérarchisation dans le but d'établir une liste restreinte de composés d'intérêt. Enfin, une méthode de référence associant la dilution isotopique à la spectrométrie de masse (DI-MS) a été développée pour l'analyse de 24 psychotropes dans les eaux de surface. Elle se caractérise par des incertitudes élargies (k=2) inférieures à 10%. La mise en œuvre de cette méthode dans des études environnementales a permis de mettre en évidence l'importance de la contribution de l'incertitude liée à l'échantillonnage par rapport à l'incertitude totale de mesure.

Mots clés : *psychotropes, pharmaceutiques, eau, environnement, contamination, métrologie, méthode de référence, dilution isotopique spectrométrie de masse (DI-MS), incertitudes*

Abstract

Pharmaceuticals and their residues belong to the so-called “emerging” pollutants for which no current regulation is applied regarding their presence in the environment. Monitoring the contamination of aquatic resources by these kinds of micropollutants is a necessity in order to anticipate potential effects regarding human health and ecosystems. In this context, data quality (traceability and comparability) is compulsory so as to take better decisions regarding policies to be driven. Psychotropic compounds, which are widely consumed, display a great concern in that field.

This thesis aimed at characterizing occurrence of psychotropic compounds in the environment and putting forward metrological tools insuring accuracy, traceability, comparability as well as representativity of the measurement results.

To that purpose, a SPE-LC-MS² multi-residue method has been developed for a selection of psychotropic compounds and other commonly consumed drugs. Method limits of quantification were in the range of $ng.L^{-1}$ which enabled to characterize their occurrence in several surface waters and treated wastewaters. Concurrently, usage of integrative samplers was evaluated and applied on the field in different locations. Occurrence levels of 68 selected compounds were established by implementation of this complementary strategy in aquatic systems. Furthermore, results from measurement campaigns were used to rank studied compounds into a short list of interest. Finally, a reference method using isotopic dilution and mass spectrometry (DI-MS) was developed for the characterization of 24 psychotropic compounds in surface waters. Expanded uncertainties (k=2) inferior to 10% were obtained. Last be not least, implementing this method to environmental analysis emphasized the importance of sampling related uncertainties regarding to global measurement uncertainties.

Keywords : *psychotropic, compounds, pharmaceuticals, water, environment, contamination, reference method, isotopic dilution mass spectrometry (ID-MS), measurement uncertainties*

Sommaire Général

Sommaire Général **11**

Liste des Figures **15**

Liste des Tableaux **18**

Liste des acronymes et abréviations **21**

Introduction **23**

Chapitre 1

Sélection d'une liste de molécules psychotropes d'intérêt **29**

1. Qu'est-ce qu'un psychotrope ? **31**
1.1. Du point de vue juridique et institutionnel 31
1.2. Du point de vue étymologique et pharmacologique 31
1.3. Les psychotropes, un ensemble hétérogène 33
2. Démarche et paramètres de sélection **34**
2.1. Démarche de sélection 34
2.2. Paramètres de sélection : sources et devenir des substances pharmaceutiques dans l'environnement 34
3. Données de Consommation **37**
3.1. Données de l'Agence française de sécurité des produits de santé 37
3.2. Données de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie 41
3.3. Les substances illicites 43
4. Métabolisation **45**
5. Devenir et élimination dans les stations d'épuration **50**
5.1. Les procédés usuels de traitement des eaux usées 50
5.2. Sources de variabilité dans l'efficacité des traitements 51
5.3. Rendement d'abattement à l'épuration 54
5.4. Données d'occurrence dans les effluents 55
6. Devenir et occurrence dans l'environnement **60**
6.1. Compartiment abiotique 60
6.2. Compartiment biotique 63
6.3. Données d'occurrence dans les eaux de surface 64
7. Ecotoxicité **69**
7.1. Effets directs 69
7.2. Effets mélanges 70
7.3. Données d'écotoxicologie : limites et perspectives 71
8. Bilan et sélection d'une liste de composés d'intérêt **74**
8.1. Récapitulatif des critères de sélection 74
8.2. Liste des composés sélectionnés 75

Chapitre 2

Développement d'une méthode multi-résidus SPE-UPLC-MS² pour la recherche d'une liste de psychotropes pertinents dans l'environnement aquatique **85**

1. Présentation des molécules sélectionnées **86**
1.1. Les substances illicites 86
1.2. Les antiépileptiques 87
1.3. Les benzodiazépines et molécules associées 88
1.4. Les opiacés et opioïdes 91
1.5. Autre psycholeptique 92
1.6. Les antidépresseurs 93

1.7. Les médicaments contre la démence : anti-Alzheimer....95
1.8. Autres médicaments de consommation courante....96
2. Etude bibliographique des techniques utilisées pour l'analyse des composés sélectionnés dans des eaux naturelles....99
2.1. Préparation de l'échantillon....99
2.2. Analyse : séparation et détection....103
2.3. Les effets matrices....108
2.4. Performances de méthodes existantes pour la caractérisation de résidus de psychotropes, paracétamol et AINS dans des eaux résiduaires, de surface et de boisson....109
3. Méthode multi-résidus SPE-UPLC-MS² 116
Article : *"Step by step development of a multi-residue method for scrutinizing the occurrence of psychotropic compounds in French continental and drinking waters"*....118
Abstract....118
1. Introduction....119
2. Material and method....120
3. Results and discussion....124
4. Conclusion and perspectives....140
Supplementary Information....141

Chapitre 3

Développement d'une approche complémentaire par échantillonnage intégratif pour la caractérisation de l'occurrence des psychotropes dans les systèmes aquatiques....155

1. Enjeux de l'échantillonnage dans l'analyse des systèmes aquatiques....158
1.1. L'échantillonnage actif....158
1.2. L'échantillonnage passif....163
1.3. Echantillonneurs intégratifs de type POCIS pour l'analyse des composés sélectionnés....169
2. Méthode analytique pour l'étalonnage des POCIS en laboratoire....178
2.1. Molécules analysées....178
2.2. Analyse des eaux....179
2.3. Montage, extraction et analyse des POCIS....179
2.4. Caractérisation du rendement d'extraction de la phase adsorbante....180
3. Etalonnage en laboratoire de POCIS pour l'analyse des psychotropes sélectionnés....182
3.1. Conditions expérimentales....182
3.2. Plan de prélèvements....183
3.3. Résultats....183
4. Démonstration de l'applicabilité des POCIS à l'étude de l'occurrence de psychotropes et d'autres médicaments de consommation courante....191
4.1. Intérêt des POCIS pour la mise en évidence de la présence des molécules sélectionnées....191
4.2. Concentrations mesurées dans les POCIS....193
4.3. Concentrations moyennes en psychotropes estimées par l'approche POCIS....194
5. Bilan du développement d'une approche complémentaire par échantillonnage intégratif 198

Chapitre 4

Etude de l'occurrence des psychotropes dans les systèmes aquatiques français dans le but d'établir une liste restreinte de molécules d'intérêt....201

1. Caractérisation des effluents de stations d'épuration....204
1.1. Description des sites et du déroulement de l'étude....204
1.2. Résultats....206
2. Etude de la contamination d'un petit cours d'eau : cas de la Jalle d'Eysines....213
2.1. Description du site et du déroulement de l'étude....213
2.2. Résultats....214
3. Etude de la contamination de points de captage en eaux de surface provenant de 2 grands cours d'eau....218
3.1. Description des sites et du déroulement de l'étude....218
3.2. Résultats....219
4. Etude de la contamination d'un grand cours d'eau : cas de la Seine au niveau de la ville de Paris....228
4.1. Description des sites et du déroulement de l'étude....228
4.2. Résultats....229
5. Bilan de la mise en œuvre de la méthode multi-résidus dans l'environnement....237

5.1. Caractérisation dans les effluents de stations d'épuration 237
5.2. Caractérisation dans les eaux de surface 237
6. Sélection d'une liste de molécules pour le développement d'une méthode de référence. 238
6.1. Démarche de hiérarchisation 238
6.2. Calcul du score d'occurrence 239
6.3. Score rejets de station d'épuration 240
6.4. Eaux de surface 241
6.5. Classement en fonction de l'occurrence dans les différents types d'eaux analysées 243
6.6. Facteurs de pondération 246
6.7. Sélection d'une liste restreinte de composés pour le développement d'une méthode de référence 248

Chapitre 5

Développement et application d'une méthode de référence pour la caractérisation de composés psychotropes dans l'environnement 253

1. La métrologie 255
1.1. Définition, organisation, concepts et outils 255
1.2. Exigences réglementaires et normatives 259
1.3. Besoins métrologiques dans le domaine de l'analyse des eaux 260
2. Méthode de référence 262
2.1. Description du processus de mesure 262
2.2. Domaine d'application 263
2.3. Produits chimiques, réactifs 263
2.4. Protocole analytique 265
2.5. Méthode de quantification 268
3. Caractérisation des performances initiales de la méthode 269
3.1. Analyse du modèle d'étalonnage 269
3.2. Détermination des limites de quantification 273
3.3. Taux de récupération et rendements méthode 276
3.4. Exactitude de la méthode 280
4. Evaluation des d'incertitudes 282
4.1. Stratégie 282
4.2. Evaluation de l'incertitude laboratoire 282
4.3. Evaluation de l'incertitude d'échantillonnage milieu 285
4.4. Evaluation de l'incertitude de mesure totale 286
5. Application de la méthode de référence dans l'environnement 287
5.1. Occurrence des composés recherchés sur le site de Tolbiac 287
5.2. Incertitudes échantillonnage 292
5.3. Incertitudes de mesure totale dans les eaux de surface 296
6. Bilan du développement et de la mise en œuvre de la méthode de référence 299

Conclusions et perspectives 301

Bibliographie 305

Annexes 335

ANNEXE 1.1 – Coefficients de distribution et de partage 336
ANNEXE 1.2 – Le traitement des eaux usées 338
ANNEXE 1.3 – Prédiction des rendements d'élimination pour une sélection de composés psychotropes par traitement secondaire sur boues activées 341
ANNEXE 2.1 – Techniques de préparation d'échantillons environnementaux utilisées dans la littérature 345
ANNEXE 2.2 – Phases stationnaires utilisées dans la littérature pour la séparation en chromatographie liquide de certains composés sélectionnés 346
ANNEXE 2.3 – Types d'analyseurs de masses utilisés dans la littérature pour la caractérisation de certains composés sélectionnés 347
ANNEXE 3.1 – Techniques d'échantillonnage actif utilisées pour les analyses environnementales 348

ANNEXE 3.2 – Distribution des quantités mesurées entre les membranes et les échantillonneurs pour les analytes présentant un « lag time 349
ANNEXE 4.1 – Etude de la contamination d'effluents de STEP 350
ANNEXE 4.2 – Etude de la contamination de la Jalle d'Eysines 362
ANNEXE 4.4 – Concentrations mesurées dans les eaux de surface en Seine au niveau de la ville de Paris 368
ANNEXE 4.5 – Débits de la Seine et de la Marne au cours des campagnes de mesure 380
ANNEXE 4.6 – Niveaux de contamination relatifs en paracétamol et en diclofénac par rapport à une sélection représentative de molécules psychotropes étudiées 381
ANNEXE 5.1 – Calcul de l'incertitude-type composée de la concentration en analyte dans l'échantillon. 382
ANNEXE 5.2 – Concentrations dans les eaux de la Seine et incertitudes laboratoires associées 384

Liste des Figures

Introduction

FIGURE I.1 – Stratégie pour le développement d'une méthode de référence pour la caractérisation de psychotropes émergents dans l'environnement 26

Chapitre 1

FIGURE 1.1 – Le classement ATC : anatomique, thérapeutique, chimique. 32
FIGURE 1.2 – Illustration de la diversité structurale au sein d'une même classe thérapeutique : exemple de deux antiépileptiques couramment prescrits. 33
FIGURE 1.3 – Cycle biogéochimique des substances pharmaceutiques dans l'environnement. 36
FIGURE 1.4 – Evolution des ventes (exprimée en DDJ) par classe thérapeutique des molécules classées ATC-N sur la période 1999-2009 d'après (AFSSAPS, 2011). 38
FIGURE 1.5 – Evolution des ventes (exprimée en DDJ) par sous-classe thérapeutique des molécules classées N sur la période 1999-2009 d'après (AFSSAPS, 2011). 39
FIGURE 1.6 – Exemple de calcul des quantités consommées à partir de la base Medic'am sur deux formes galéniques du prozac® 20mg. 41
FIGURE 1.7 – Schéma de principe du métabolisme d'un xénobiotique 45
FIGURE 1.8 – Procédés de traitements de la pollution organique des eaux urbaines d'après (Boeglin, 1999; Sibony et al., 1993). 50
FIGURE 1.9 – Devenir des substances pharmaceutiques dans l'environnement. 60
FIGURE 1.10 - Produits de photodégradation de trois benzodiazépines. 62
FIGURE 1.11 – Produits de la photolyse directe de la carbamazépine 62
FIGURE 1.12 – Produits de photodégradation trois ISRS d'après (Kwon et al., 2004, 2005; Petrovic et al., 2007) 63

Chapitre 2

FIGURE 2.1 – Structures des substances illicites et de leurs métabolites sélectionnés 86
FIGURE 2.2 – Structures des antiépileptiques et de leurs métabolites sélectionnés 87
FIGURE 2.3 – Structures des benzodiazépines, « Z-drugs » et de leurs métabolites sélectionnés 89
FIGURE 2.4 – Chemins métaboliques partiels de certaines benzodiazépines d'après (Baselt, 2009) 90
FIGURE 2.5 – Structures des opiacés, des opioïdes et de leurs métabolites sélectionnés 91
FIGURE 2.6 – Structure du méprobamate 92
FIGURE 2.7 – Structures des antidépresseurs ISRS et de leurs métabolites sélectionnés 93
FIGURE 2.8 – Structures des autres antidépresseurs et de leurs métabolites sélectionnés 94
FIGURE 2.9 – Structures des anti-Alzheimer sélectionnés 96
FIGURE 2.10 – Structures des médicaments non psychotropes de consommation courante et de leurs métabolites sélectionnés 97
FIGURE 2.11 – La chaîne de l'analyse chimique. 99

Chapitre 3

FIGURE 3.1 – Les différents mode d'échantillonnage actif (adapté de (Ort et al., 2010b)) 158
FIGURE 3.2 – Représentation schématique d'un POCIS (adapté de (Alvarez, 2007)) 164
FIGURE 3.3 – Représentation du transfert des contaminants vers un échantillonneur passif (adapté de (Lissalde, 2010) et de (Belles, 2012)) 165
FIGURE 3.4 – Régimes d'accumulation d'un polluant sur un échantillonneur intégratif (adapté de (Vrana et al., 2005)) 166
FIGURE 3.5 – Comparaison des informations fournies par échantillonnage passif et ponctuel (adapté de (Mazzella et al., 2011)) 168
FIGURE 3.6 – Représentation de l'adsorption d'un contaminant et de la désorption d'un PRC (adapté de (Belles, 2012)) 177
FIGURE 3.7 – Rendements d'extraction (n=2) de la phase POCIS dopée à environ 0,35 ng.mg^{-1} de phase 180
FIGURE 3.8 – Schéma du montage expérimental pour la calibration des POCIS par exposition en flux continu 182
FIGURE 3.9 – Prélèvement des POCIS au cours de l'expérience d'étalonnage 183
FIGURE 3.10 – Exemple d'un profil d'accumulation non linéaire : cas de la MDA 184
FIGURE 3.11 – Exemple de profils d'accumulation et partition membrane/phase d'analytes avec un *« lag time »* : cas du donépézil et de la miansérine 185
FIGURE 3.12 – Exemple de profils d'accumulation linéaires avec et sans point d'inflexion : cas de la venlafaxine et du diazépam 186
FIGURE 3.13 – Influence de la méthode de calcul pour la détermination des taux d'échantillonnage : poids de la correction de la donnée 189

FIGURE 3.14 – Comparaison des concentrations mesurées (ng.L^{-1}) en Seine par échantillonnage ponctuel et échantillonnage passif 196
FIGURE 3.15 – Comparaison des concentrations mesurées (ng.L^{-1}) en Marne par échantillonnage ponctuel et échantillonnage passif..... 196
FIGURE 3.16 – Comparaison des concentrations obtenues calculées avec différents taux d'échantillonnage rapportés dans la littérature 197

Chapitre 4

FIGURE 4.1 – Localisation des différentes stations d'épuration étudiées 204
FIGURE 4.2 – Fréquences de quantification (%) et concentrations médianes (ng.L^{-1}) en anti-Alzheimer, antidépresseurs, opiacés et opioïdes ainsi qu'en substances illicites dans les effluents de STEP 206
FIGURE 4.3 – Empreinte de la contamination des différents effluents par les antiépileptiques étudiés (somme des concentrations médianes exprimées en ng.L^{-1}). 209
FIGURE 4.4 – Concentrations (exprimées en ng.L^{-1}) en psycholeptiques mesurées dans les 39 échantillons d'effluents analysés 211
FIGURE 4.5 – Empreinte de la contamination des différents effluents par les médicaments de consommation courante étudiés..... 212
FIGURE 4.6 – Localisation des points de prélèvement étudiés dans la Jalle d'Eysines..... 213
FIGURE 4.7 – Concentrations (exprimées en ng.L^{-1}) mesurées dans la Jalle d'Eysines en amont et en aval du rejet de la station d'épuration pour une sélection représentative de composés..... 215
FIGURE 4.8 – Relation entre les concentrations (exprimées en ng.L^{-1}) mesurées dans l'effluent et en aval du rejet de la station d'épuration pour une sélection représentative de composés..... 216
FIGURE 4.9 – Localisation des sites d'études au niveau de points de captage d'eau potable 218
FIGURE 4.10 – Coefficients de variation des concentrations mesurées sur chaque site durant la campagne de mesure pour une sélection représentative de composés 220
FIGURE 4.11 – Ecarts relatifs, exprimés en %, des niveaux de contamination moyens observés entre les deux sites étudiés pour les composés les plus fréquemment quantifiés. 220
FIGURE 4.12 – Profils de contamination des antidépresseurs les plus fréquemment quantifiés sur les sites d'étude (n=10)..... 221
FIGURE 4.13 – Profils de contamination en antiépileptiques sur les sites d'étude (n=10) 222
FIGURE 4.14 – Profils de contamination en opiacés et en opioïdes sur les sites d'étude (n=10) 224
FIGURE 4.15 – Profils de contamination en benzodiazépines et *« Z-drugs »* sur les sites d'étude (n=10) 225
FIGURE 4.16 – Localisation des points de prélèvement sur le transect de Seine étudié 228
FIGURE 4.17 – Concentrations cumulées en antiépileptiques durant les campagnes de mesure en Seine 230
FIGURE 4.18 – Distribution relative de chaque molécule dans l'empreinte totale en antiépileptiques 231
FIGURE 4.19 – Profil de la contamination en substances illicites et en anti-Alzheimer dans la Seine (n=19) 232
FIGURE 4.20 – Profils de contamination en antidépresseurs dans la Seine (n=19) 233
FIGURE 4.22 – Profils des concentrations mesurées (n=19) dans la Seine en benzodiazépines 234
FIGURE 4.21 – Profils de la contamination en opiacés et en opioïdes dans la Seine (n=19)..... 235

Chapitre 5

FIGURE 5.1 – Traçabilité métrologique des analyses physico-chimiques..... 256
FIGURE 5.2 – Enjeux métrologiques pour assurer la qualité de la donnée..... 257
FIGURE 5.3 – Concepts de justesse et de fidélité 257
FIGURE 5.4 – Principe de la dilution isotopique associée à l'extraction sur phase solide et à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (DI-SPE-LC-MS/MS) 262
FIGURE 5.5 – Modèle d'étalonnage pour la détermination de la concentration en analyte dans l'échantillon : exemple de la carbamazépine..... 269
FIGURE 5.6 – Vérification des limites de quantification dans une eau d'Evian pour l'ensemble des composés analysés (n=2) 274
FIGURE 5.7 – Vérification des limites de quantification en matrice pour 8 des 25 composés analysés (n=2) 275
FIGURE 5.8 – Protocoles mis en œuvre pour la détermination des rendements méthode et des rendements d'extraction..... 277
FIGURE 5.9 – Rendements méthode et taux de récupération moyens dans des conditions de fidélité intermédiaires (4 jours x 4 échantillons)..... 279
FIGURE 5.10 – Biais de justesse et dispersion observés pour l'ensemble des analytes dans des conditions de fidélité intermédiaires (5 jours x 3 échantillons)..... 281
FIGURE 5.11 – Diagramme d'Ishikawa permettant de visualiser l'ensemble des facteurs pris en compte dans le calcul de la concentration en analyte dans un échantillon..... 283
FIGURE 5.12 – Plan d'échantillonnage mis en œuvre au niveau du pont de Tolbiac 285

FIGURE 5.13 – Concentrations mesurées sur le site de Tolbiac (n=16) 288
FIGURE 5.14 – Poids exprimé en % des différentes composantes dans l'incertitude laboratoire pour une sélection de composés 291
FIGURE 5.15 – Concentrations mesurées en carbamazépine, en benzoylecgonine et en diclofénac sur le site de Tolbiac en fonction du préleveur et de la rive 293
FIGURE 5.16 – Concentrations mesurées en codéine et en norcodéine sur le site de Tolbiac en fonction du préleveur et de la rive 294
FIGURE 5.17 – Poids exprimé en % des incertitudes laboratoire et échantillonnage dans l'incertitude de mesure environnementale 297

Liste des Tableaux

Chapitre 1

TABLEAU 1.1 – Spécialités les plus vendues en quantité (nombre de boîtes) en officines, en France, en 2009 d'après le « top 50 » Afssaps pour l'année 2009 (AFSSAPS, 2011). 37
TABLEAU 1.2 – Consommation annuelle (en kg) sur l'année 2004 pour une liste restreinte de molécules d'après Besse et Garric (Besse et al., 2007) 40
TABLEAU 1.3 – Consommation estimée (en kg) des personnes couvertes par le régime général en France sur l'année 2009 pour les molécules ATC-N ainsi que les principaux AINS (calculée à partir de la base de donnée Medic'am (CPAM, 2010)). 42
TABLEAU 1.4 – Prévalence annuelle exprimée en % de la population chez les 15-64 ans en France (d'après (UNODC, 2010)) 43
TABLEAU 1.5 – Expérimentation (exprimées en % de la population n) des principales substances illicites en France d'après (Beck et al., 2006, 2011). 43
TABLEAU 1.6 – Données de métabolisme (taux excrétion urinaire en % arrondi à l'unité) pour une sélection de psychotropes, d'AINS et du paracétamol 47
TABLEAU 1.7 – Taux d'abattement ($\%\Delta_{entrée\text{-}sortie}$) lors du traitement en station d'épuration. 54
TABLEAU 1.8 – Concentrations maximales mesurées ($ng.L^{-1}$) dans les effluents de stations d'épuration en France (résultats arrondis à l'unité). 56
TABLEAU 1.9 – Concentrations maximales mesurées ($ng.L^{-1}$) dans les effluents de stations d'épuration à l'étranger (résultats arrondis à l'unité). 57
TABLEAU 1.10 – Données d'occurrence pour une liste de substances psychotropes, acétaminophène et AINS dans les eaux de surface françaises (concentrations maximales exprimées en ng/L, arrondies à l'unité). 66
TABLEAU 1.11 – Occurrence des substances psychotropes, acétaminophène et AINS dans les eaux de surface à l'étranger (concentrations maximales exprimées en ng/L, arrondies à l'unité) 67
TABLEAU 1.12 – Données de toxicité aiguë et chronique pour une liste de substances psychotropes, paracétamol et AINS reportée dans la littérature (suite) 73
TABLEAU 1.13 – Synthèse des critères selon leur ordre de grandeur ou d'importance pour la sélection d'une liste liste de molécules d'intérêt dans l'environnement 76
TABLEAU 1.14 – Liste des 69 composés sélectionnés. 80

Chapitre 2

TABLEAU 2.1 – Quantité (en nombre de boîtes) d'antidépresseurs remboursés par l'assurance maladie en 2012 (d'après (CPAM, 2013)) 95
TABLEAU 2.2 – Phases utilisées parmi 62 publications mettant en œuvre la SPE pour l'extraction de certains composés sélectionnés dans les eaux naturelles 100
TABLEAU 2.3 – Phases utilisées parmi 54 publications mettant en œuvre la SPE pour la séparation de certains composés sélectionnés 104
TABLEAU 2.4 – Types d'analyseurs de masses utilisés parmi 62 publications caractérisant les substances psychotropes, et des autres médicaments de consommation courante dans les eaux de surface et de stations d'épuration. 107
TABLEAU 2.5 – Synthèse bibliographique des méthodes d'analyses de résidus médicamenteux : psychotropes, paracétamol et AINS dans les matrices aqueuses et performances associées 111

Chapitre 3

TABLEAU 3.1 – Type de méthodes d'échantillonnage mises en œuvre parmi 63 références bibliographiques analysant les composés sélectionnés dans les eaux de surface et de stations d'épuration 159
TABLEAU 3.2 – Revue bibliographique des conditions expérimentales d'étalonnage et des constantes d'étalonnage (R_s) pour certaines des molécules sélectionnées 171
TABLEAU 3.3 – Effets des facteurs environnementaux sur les taux d'échantillonnage de micropolluants organiques par des POCIS (adapté de (Harman et al., 2012b)) 176
TABLEAU 3.4 – Noms et paramètres physico-chimiques des molécules choisies pour l'étalonnage des POCIS 178
TABLEAU 3.5 – Régimes d'accumulation et paramètres cinétiques pour 42 des 47 composés étudiés dans les POCIS 187
TABLEAU 3.6 – Mise en évidence de la présence des composés recherchés selon la technique d'échantillonnage utilisée 191
TABLEAU 3.7 – Concentrations mesurées dans les POCIS ($ng.g^{-1}$ de phase) déployées pendant 14 jours dans les eaux de la Seine et de la Marne. 194

TABLEAU 3.8 – Concentrations moyennées sur une période de 14 jours dans les eaux de surface échantillonnées par les POCIS 195

Chapitre 4

TABLEAU 4.1 – Caractéristiques des stations d'épuration sélectionnées 205
TABLEAU 4.2 – Score d'occurrence dans les eaux de stations d'épuration pour l'ensemble des molécules analysées 240
TABLEAU 4.3 – Score d'occurrence dans les eaux de surface pour l'ensemble des molécules analysées 242
TABLEAU 4.4 – Hiérarchisation de l'ensemble des molécules analysées selon leur score d'occurrence environnementale 243
TABLEAU 4.5 – Liste des 25 molécules sélectionnées pour le développement d'une méthode de référence 249

Chapitre 5

TABLEAU 5.1 – Noms, CAS, puretés, fournisseurs et informations complémentaires sur les étalons analytiques utilisés 264
TABLEAU 5.2 – Concentrations cibles des points de gamme en analytes et en étalons internes 265
TABLEAU 5.3 – Conditions chromagraphiques de la méthode 266
TABLEAU 5.4 – Temps de rétention et paramètres MRM utilisés dans la méthode de référence 267
TABLEAU 5.5 – Exploitation de la gamme d'étalonnage utilisée pour quantifier la carbamazépine dans les eaux de surface 270
TABLEAU 5.6 – Analyse de stabilité du modèle d'étalonnage de la carbamazépine dans des conditions de répétabilité 270
TABLEAU 5.7 – Analyse de la variance pour le modèle d'étalonnage de la carbamazépine 271
TABLEAU 5.8 – Analyse du modèle d'étalonnage : coefficient de régression linéaire et analyses des variances dans des conditions de répétabilité 272
TABLEAU 5.9 – Limites de quantification estimées et expérimentales pour l'ensemble des composés analysés 275
TABLEAU 5.10 – Rendements méthode, d'extraction et taux de récupération dans des conditions de répétabilité (1 jour x 4 échantillons) 278
TABLEAU 5.11 – Estimation des incertitudes-types pour chacune des grandeurs d'entrée du modèle 283
TABLEAU 5.12 – Concentration et incertitudes laboratoire élargies (k=2) pour 22 composés quantifiés dans l'échantillon le plus représentatif du site d'étude 290
TABLEAU 5.13 – Incertitudes élargies liées à l'échantillonnage (k=2) exprimée en % de 22 composés quantifiés dans des eaux de surface sur le site d'étude 292
TABLEAU 5.14 – Analyses de variances pour l'évaluation de l'effet préleveur et l'effet rive à 95% de confiance 295
TABLEAU 5.15 – Incertitudes de mesure environnementale élargies (k=2) exprimées en % 296
TABLEAU 5.16 – Concentrations et incertitudes de mesure associées (k=2) sur 3 sites de prélèvement en Seine 298

Liste des acronymes et abréviations

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AINS : Anti Inflammatoire Non Stéroïdiens
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail
ANSM : Agence Nationale des Produits de Santé
ATC : Anatomique Thérapeutique Chimique
APCI : Ionisation Chimique à Pression Atmosphérique
BIPM : Bureau International des Poids et Mesure
CCQM : Comité Consultatif Quantité de Matière
CE50 : Concentration Efficace médiane
CPAM : Caisse Primaire d'Assurance Maladie
DCE : Directive Cadre sur l'Eau
DI : Dilution Isotopique
DL50 : Dose Létale médiane
EI : Etalon Interne
EIL : Essais Inter-Laboratoire
EMCDDA : European Monitoring Centre for Drugs and Drus Addictions
EMEA : European Medicines Agency
EPA : US Environmental Protection Agency
ESI : Ionisation par Electro-Spray
GABA : acide γ-aminobutyrique
GC : Chromatographie en phase Gazeuse
GUM : Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure
HILIC : Chromatographie en phase Liquide d'Interaction Hydrophile
IMAO : Inhibiteurs de la Monoamine Oxydase
INM : Institut National de Métrologie
ISRS : Inhibiteur Sélectif de la Recapture de la Sérotonine
IT : Ion Trap
IUPAC : Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée
LC : Chromatographie en phase Liquide
LOEC : Lowest Observable Effect Concentration
LPME : Micro-Extraction en Phase Liquide
LQ ou LOQ : Limite de Quantification (Limit of Quantification)
MIP : Polymères à Empreintes Moléculaires
MRC : Matériau de Référence Certifié
MRM : Multi-Reaction Monitoring
MS : Spectrométrie de Masse
MS-MS ou MS^2: Spectrométrie de Masse en tandem
NOEC : No Observable Effect Concentration
OFDT : Observatoire Français des Drogues et des Toxicomanies
OMS ou WHO : Organisation Mondiale de la Santé (World Health Organisation)
ONU ou UN: Organisation des Nations Unies (United Nations)
PEC : Predicted Environmental Concentration
PES : Polyéthersulfone
PNEC : Predicted No Effect Concentration
POCIS : Polar Compounds Integrative Sampler
PRC : Performance Reference Compound
SBSE : Stir Bar Sorptive Extraction
S-DDD : Standard Defined Daily Dose
SI : Système International

SPE : Extraction en Phase Solide
SPME : Micro-Extraction en Phase Solide
SPMD : Semi-Permeable Membranes Devices
STEP : STation d'EPuration des eaux usées
ToF : Time of Flight
tQ ou QqQ : triple quadripôde
UNOCD : United Nation Office on Drugs and Crime

Introduction

L'eau est une ressource indispensable à toute forme de vie. Cette dépendance inévitable conduit à la notion de patrimoine commun à tous les organismes vivants. L'activité humaine a des conséquences globales sur l'environnement et notamment sur la quantité et la qualité de l'eau, ce qui entraine des répercussions sur les besoins des écosystèmes ainsi que sa disponibilité pour l'usage humain (ESSP, 2007; UNEP, 2012). Cela souligne deux enjeux fondamentaux. Le premier est celui de la préservation des ressources. Le second concerne les risques inhérents à la présence de composés potentiellement actifs dans l'environnement pour la santé humaine et des écosystèmes.

L'Union Européenne a fixé un cadre législatif à la gestion des masses d'eaux avec la Directive loi Cadre sur l'Eau (DCE) du 23 octobre 2000 (Directive 2000/60/CE). Cette directive a pour ambition de définir une politique commune dans ce domaine et détermine la responsabilité des états membres à agir dans le sens de la protection de l'hydrosphère et de la biosphère. Son objectif final est d'atteindre un bon état chimique et écologique de toutes les eaux communautaires d'ici à 2015 (Parlement Européen, Conseil, 2000). Pour répondre aux exigences de la DCE, il est nécessaire de réaliser un état des lieux préliminaire, d'établir un plan de gestion des masses d'eau, ainsi que de mettre en œuvre des programmes de mesures et de surveillance.

Une liste de 33 substances prioritaires a été définie dans la version initiale de la DCE. Depuis, le mois d'août 2013, la directive 2013/39/UE a été adoptée introduisant ainsi 12 nouvelles molécules à cette liste (Parlement Européen, Conseil, 2013). La Commission a également créé une liste de vigilance *« composée de substances pour lesquelles des données de surveillance sont recueillies en vue d'étayer les futures »*. Celle-ci est néanmoins limitée à 10 composés. Le champ de cette réglementation ne couvre donc qu'une infime partie des polluants chimiques présents dans les eaux de surface. Par ailleurs, il existe un besoin d'information quant aux risques liés à la présence dans l'environnement de substances dites *« émergentes »*. Ce qualificatif désigne l'ensemble des composés (encore) non-réglementés et ce, en dépit des risques qu'ils représentent de part leur occurrence et/ou leur(s) effet(s) indésirable(s) (NORMAN). Les médicaments font partie de ce groupe de substances pour lesquelles l'apport d'information est primordial en raison du manque de connaissances quant à leur comportement environnemental et écotoxicologique.

Pour répondre à ces enjeux, plusieurs plans nationaux ont été établis en France comme le Plan National Santé Environnement 2 (PNSE2) (2009-2013), le Plan national sur les résidus de médicaments dans les eaux (PNRM) (2010-2015) ou encore le Plan National Micropolluants (2010-2013).

L'une des actions du PNSE 2 (action n° 30) consistait à *« améliorer la connaissance et réduire les risques liés aux rejets de médicaments dans l'environnement »* (Gentilini, 2008). A l'échéance du plan, le Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP) a été mandaté dans le cadre d'une mission d'évaluation. Concernant, la contamination des milieux aquatiques, le HCSP a indiqué qu'il n'était pas possible de conclure en raison de problèmes dans la résolution spatiale et/ou temporelle des données collectées ainsi qu'à la qualité de l'information et son exploitabilité (HCSP, 2013). Le Plan National sur les Résidus de Médicaments dans les eaux (PNRM) 2010-2015 reprend, en autres objectifs, l'action n°30 du PNSE 2. Pour se faire, le PNRM prévoit notamment de *« réaliser un état lieux de la contaminations des eaux »* et de *« développer les outils métrologiques adaptés »* (MAS, 2014). Le Plan National Micropolluants pour la période 2010-2013 a quant à lui pour objectifs de renforcer la surveillance des systèmes aquatiques et d'améliorer leur comparabilité. Le renforcement de la surveillance inclut les substances non réglementées pour *« anticiper et définir les substances spécifiques nationales pour lesquelles des actions doivent être engagées»*. L'amélioration de la qualité de la donnée comprend d'une part *« l'adéquation entre objectifs environnementaux et performances analytiques […] du prélèvement jusqu'à l'interprétation des résultats en prenant en compte leur niveau d'incertitude »* et d'autre part le développement d'outils innovants pour la surveillance future (MEDDE, 2010).

Selon plusieurs estimations, plus de 3 000 substances pharmaceutiques sont disponibles sur le marché mondial (Calisto et al., 2009; Hummel et al., 2006; Richardson, 2010). La France en est d'ailleurs l'une des plus grosses consommatrices en Europe (Le Pen et al., 2007). Ces molécules couvrent une large gamme de propriétés et de structures allant par exemple des macromolécules antibiotiques jusqu'aux sels de lithium utilisés dans le traitement des troubles bipolaires (Mompelat et al., 2009; Richardson, 2010). Après excrétion, les substances pharmaceutiques rejoignent le circuit des eaux usées. Les effluents de stations d'épuration ainsi que les rejets domestiques directs constituent d'ailleurs la principale voie de pénétration de ce type de polluants dans l'environnement (Daughton et al., 1999; Kümmerer, 2008).

L'étude des composés pharmaceutiques en tant que polluants environnementaux s'est développée dans les années 1990 grâce aux progrès des techniques analytiques permettant leur détection et leur quantification à l'état de traces (Daughton, 2001; Petrovic et al., 2010). Depuis les années 2000, de plus en plus de publications scientifiques paraissent sur ce sujet (Calisto et al., 2009; Heberer, 2002). Toutefois, seul un nombre très limité de molécules a fait l'objet d'investigations que ce soit dans le domaine environnemental ou écotoxicologique (Mompelat et al., 2009; Richardson, 2010). Dans une étude bibliographique de 2009, Mompelat *et al.* soulignent ce paradoxe : moins de 200 composés issus de médicaments ont été étudiés dont seulement une trentaine de produits de dégradation (Mompelat et al., 2009). Il existe donc, toujours aujourd'hui, un besoin d'informations pour un nombre important de molécules appartenant à diverses classes thérapeutiques.

Des études ont été conduites et ont démontré la présence chronique de résidus médicamenteux et de substances illicites dans des rejets d'épuration et des eaux de surface de différents pays comme par exemple en Espagne (González et al., 2012), en Allemagne (Hummel et al., 2006), en Belgique (van Nuijs et al., 2009a), aux Pays-Bas (Bijlsma et al., 2012), en Suisse (Berset et al., 2010), en Grande-Bretagne (Baker et al., 2013), en Italie (Al Aukidy et al., 2012), en Norvège (Vasskog et al., 2008), en Suède (Bendz et al., 2005), en Serbie (Petrović et al., 2014), en Slovénie (Kosjek et al., 2005), au Canada (Lajeunesse et al., 2008) et aux Etats-Unis (Kolpin et al., 2002). En France, des données d'occurrence dans les eaux résiduaires, souterraines et de

surfaces ont été également publiées notamment pour des anti-inflammatoires non stéroïdiens, et certains psychotropes antiépileptiques, antidépresseurs, anxiolytiques ainsi que des substances illicites (Capdeville et al., 2011; Idder, 2012; Karolak et al., 2010; Lardy-Fontan, 2008; Leclercq et al., 2009; Nefau et al., 2013; Togola et al., 2008a; Vulliet et al., 2011).

Toutefois, comme l'ont souligné les tables rondes de la Conférence Environnementale, les risques potentiels que représentent les polluants non réglementées sur les organismes non-cibles ne sont toujours pas clairement établis notamment en ce qui concerne les effets cocktails et des très faibles doses (MEDDE, 2012). En conséquence, la caractérisation de l'occurrence des substances émergentes dans l'environnement demeure un enjeu réel. Par ailleurs, il est également capital de poursuivre les efforts de connaissance sur des molécules nouvelles et en particulier sur les métabolites et produits de transformation. Dans ce contexte, l'étude des psychotropes présente un enjeu important d'autant plus qu'il s'agit de molécules abondamment consommées. A titre d'exemple, durant l'année 2000, la sécurité sociale française a remboursé un médicament psychotrope à 24,5% de ses bénéficiaires (Lecadet et al., 2003).

L'apport d'informations dans ce domaine est essentiel et l'attente sociétale importante. En effet, les baromètres d'opinions réalisés en 2003 et en 2013 indiquent que la préservation de la qualité de l'eau des rivières, des lacs et des nappes souterraines est une préoccupation pour un français sur deux (IFEN, 2004; ONEMA, 2013). Aussi, comme l'a souligné la mission d'évaluation du PNES 2, il est primordial de disposer de données de qualité afin d'identifier les pressions existantes sur le milieu et de décider au mieux des politiques à conduire dans ce domaine. Le besoin de disposer de données exactes, traçables et comparables mais également représentatives est évident. Ceci repose sur la mise en place d'infrastructures métrologiques dont les méthodes de référence primaires mettant en œuvre la dilution isotopique couplée à la spectrométrie de masse sont la base.

Cette thèse se propose d'établir une méthode de référence pour la caractérisation de substances psychotropes émergentes dans l'environnement. Elle s'inscrit à la fois dans un enjeu d'acquisition de données environnementales ainsi que dans un enjeu de qualité et de représentativité de la donnée.

La FIGURE I.1 présente la stratégie adoptée pour satisfaire aux objectifs de ces travaux de thèse.

L'ensemble des molécules psychotropes, leurs métabolites et leurs produits de dégradation éventuels dans l'environnement représente plusieurs milliers de molécules. Il n'est donc ni concevable ni pertinent d'appréhender le problème de façon directe. C'est pourquoi, une approche par étapes successives a été adoptée. Celle-ci comprend une première phase de sélection qui a permis d'établir une liste de molécule d'intérêt (1). Dans un second temps, des développements méthodologiques ont été conduits en suivant deux approches complémentaires (2 et 3). Leur application a ensuite contribué à apporter des informations liées à l'occurrence des molécules psychotropes et de leurs résidus dans l'environnement (4). Sur la base de ces résultats une seconde phase de sélection a été entreprise afin d'établir une liste restreinte de composés pour lesquels une méthode de référence a été développée (5).

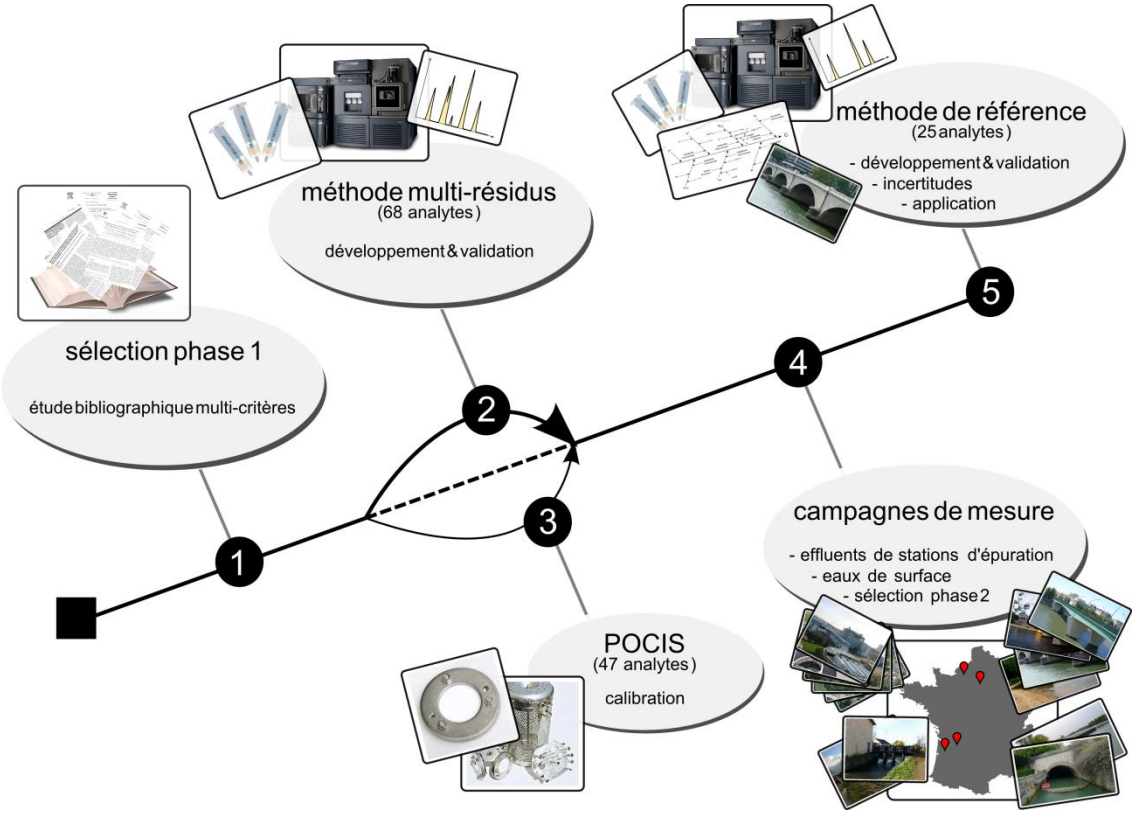


FIGURE I.1 – Stratégie pour le développement d'une méthode de référence pour la caractérisation de psychotropes émergents dans l'environnement

Le manuscrit s'articule en 5 chapitres autour de cette stratégie :

1. Le premier chapitre présente la première phase de sélection d'une liste de composés psychotropes pertinents dans l'environnement. Celle-ci s'est appuyée sur une étude bibliographique intégrant les aspects de consommation, de métabolisation, d'abattement dans les stations d'épuration, de devenir dans l'environnement, d'occurrence et d'écotoxicité. La cohérence des familles chimiques et la volonté d'apporter des données nouvelles sur des molécules jamais étudiées ont également guidé cette sélection. Ainsi parmi l'ensemble des candidats potentiels, 69 analytes ont été retenus.
2. Le second chapitre commence par décrire l'ensemble des composés sélectionnés ainsi qu'un état de l'art des différentes techniques utilisées et protocoles mis en œuvre pour les analyser depuis l'extraction jusqu'au résultat de mesure. Ensuite, le développement d'une méthode multi-résidus par extraction sur phase solide, chromatographie en phase liquide associée à la spectrométrie de masse en tandem (SPE-UPLC-MS²) est rapporté sous la forme d'un article détaillant chaque étape du protocole, l'évaluation des performances initiales de la méthode et la démonstration de son applicabilité.
3. Le chapitre 3 est consacré au développement d'une approche complémentaire par échantillonnage intégratif. En préambule, une discussion sur les enjeux de l'échantillonnage est présentée. Elle s'appuie sur une analyse critique des techniques couramment mises en œuvre et présente les principes et les perspectives offertes par les approches de type échantillonnage intégratif. Puis, le

développement et la démonstration de l'applicabilité de POCIS pour la caractérisation de l'occurrence des psychotropes dans les systèmes aquatiques sont décrits depuis leur étalonnage jusqu'à leur déploiement dans le milieu.

4. Le quatrième chapitre présente les résultats des campagnes de mesure dans différents systèmes aquatiques (effluents de stations d'épuration et eaux de surface). Dans une seconde phase de sélection, une méthode de scoring basée sur les données d'occurrence et de facteurs de pondération (besoins réglementaires, potentiel écotoxique, besoin d'amélioration de la qualité de la donnée, faisabilité technique) a permis d'établir une liste restreinte d'intérêt.
5. Enfin le cinquième chapitre du manuscrit rapporte le développement et l'application d'une méthode de référence primaire par dilution isotopique (DI) SPE-UPLC-MS^2 pour la caractérisation de molécules psychotropes dans l'environnement. En outre une estimation complète des incertitudes de mesure a été effectuée comprenant celles liées à la méthode et celles liées à l'échantillonnage.

Chapitre 1

Sélection d'une liste de molécules psychotropes d'intérêt

1. Qu'est-ce qu'un psychotrope ? 31
1.1. Du point de vue juridique et institutionnel 31
1.2. Du point de vue étymologique et pharmacologique 31
1.3. Les psychotropes, un ensemble hétérogène 33

2. Démarche et paramètres de sélection 34
2.1. Démarche de sélection 34
2.2. Paramètres de sélection : sources et devenir des substances pharmaceutiques dans l'environnement 34

3. Données de Consommation 37
3.1. Données de l'Agence française de sécurité des produits de santé 37
3.2. Données de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie 41
3.3. Les substances illicites 43

4. Métabolisation 45

5. Devenir et élimination dans les stations d'épuration 50
5.1. Les procédés usuels de traitement des eaux usées 50
5.2. Sources de variabilité dans l'efficacité des traitements 51
5.3. Rendement d'abattement à l'épuration 54
5.4. Données d'occurrence dans les effluents 55

6. Devenir et occurrence dans l'environnement 60
6.1. Compartiment abiotique 60
6.2. Compartiment biotique 63
6.3. Données d'occurrence dans les eaux de surface 64

7. Ecotoxicité 69
7.1. Effets directs 69
7.2. Effets mélanges 70
7.3. Données d'écotoxicologie : limites et perspectives 71

8. Bilan et sélection d'une liste de composés d'intérêt 74
8.1. Récapitulatif des critères de sélection 74
8.2. Liste des composés sélectionnés 75

Bibliographie 305

ANNEXE 1.1 – Coefficients de distribution et de partage 336
ANNEXE 1.2 – Le traitement des eaux usées 338
ANNEXE 1.3 – Prédiction des rendements d'élimination pour une sélection de composés psychotropes par traitement secondaire sur boues activées 341

Différentes classes de médicaments ont été étudiées dans ce chapitre. Les définitions des termes thérapeutiques utilisés sont préalablement détaillées ici :

- **Analgésique :** substance destinée à réduire la douleur.
- **Anesthésique :** substance destinée à supprimer les sensations notamment de douleur
- **Antalgique :** substance destinée à réduire la douleur, son action est plus faible que celle de l'analgésique.
- **Anti-Alzheimer :** substance destinée au traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer
- **Anti-inflammatoire :** substance destinée à traiter les réactions inflammatoires. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens possèdent également des propriétées antipyrétiques et analgésiques
- **Antidépresseur :** substance psychostimulante destinée à remonter l'humeur dépressive.
- **Antiépileptique :** substance destinée à lutter contre l'épilepsie, certains antiépileptiques peuvent être utilisés comme anxiolytiques.
- **Antihistaminique :** substance destinée à diminuer les effets des histamines.
- **Antipyrétique :** substance destinée à diminuer la fièvre.
- **Anxiolytique :** substance destinée à réduire l'état d'anxiété.
- **Hypnotique (ou Somnifère) :** substance destinée à induire le sommeil.
- **Histamine :** neurotransmetteur notamment responsable des réactions allergiques et du contrôle de l'éveil au niveau du cerveau.
- **Psycholeptique :** substance ayant une activité sédative.
- **Sédatif :** substance à action dépressive du système nerveux central entraînant des effets anxiolytiques et hypnotiques.
- **Sympathicomimétique central :** substance stimulante du système nerveux sympathique

Ce chapitre s'attache à présenter la première partie des travaux de thèse sur l'établissement d'une liste de psychotropes d'intérêt dans l'environnement. Ce travail résulte d'une étude bibliographique préliminaire aux développements analytiques conduits par la suite. Il a été réalisé durant les premiers mois de la thèse, c'est pourquoi les références citées au cours de ce chapitre couvre une période allant jusqu'au mois de juin 2011. Certaines d'entres elles, associées à l'année 2012, étaient alors disponibles en ligne.

La première étape de cette démarche de sélection nécessite la définition préalable du terme psychotrope dont différentes interprétations sont possibles.

1. Qu'est-ce qu'un psychotrope ?

1.1. Du point de vue juridique et institutionnel

Légalement, la liste des psychotropes est fixée par la convention de l'Organisation des Nations Unies (ONU) de 1971 à laquelle le droit français a ajouté certaines molécules (JORF, 1990; WHO, 1971). Cette classification fait d'ailleurs la distinction entre psychotropes et stupéfiants qui sont eux inscrits à la convention de l'ONU de 1961 (WHO, 1961).

Pour l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps[1]), « les stupéfiants et les psychotropes sont des substances psychoactives pouvant, dans le cadre d'un usage détourné, faire l'objet de pharmacodépendance ou d'abus. […] Plus précisément, un psychotrope est une substance chimique qui agit sur le système nerveux central en induisant des modifications de la perception, des sensations, de l'humeur ou de la conscience. » (ANSM). Dans cette définition, la notion de dépendance, qui est abordée, n'est elle-même pas dénuée d'une certaine ambiguïté : dépendance physique et/ou psychologique ? Une notion pharmacologique est également introduite, permettant d'entrevoir une définition plus générale et moins subjective.

1.2. Du point de vue étymologique et pharmacologique

Le mot « psychotrope » provient du grec « psychi » (ψυχή) qui signifie « l'esprit » et « tropos » (τρόπος) qui signifie « la direction » (Bailly, 1901). Ainsi, un psychotrope est donc une substance chimique qui, par son action sur le système nerveux central, induit un changement de l'état de conscience, de perception, de sensation, de l'humeur.
Cette définition possède un sens pharmacologique large sans préjuger de l'effet ou des phénomènes de dépendance provoqués par la consommation de ces produits. En outre, elle s'affranchit de la distinction stupéfiant/psychotrope, terminologie surtout chargée d'aspects culturels et historiques.

Ainsi, une molécule psychotrope peut donc se définir comme toute substance induisant un tropisme du système nerveux central. C'est en suivant cette définition que l'utilisation du système de classification ATC (Anatomique Thérapeutique Chimique) de

[1] Depuis, le 1er mai 2012, l'Afssaps est devenue l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM).

l'Organisation Mondiale de la Santé a permis de délimiter le champ des molécules à étudier. Le classement ATC associe toutes les molécules médicamenteuses à un code spécifique attribué selon plusieurs niveaux.

FIGURE 1.1 – Le classement ATC : anatomique, thérapeutique, chimique.

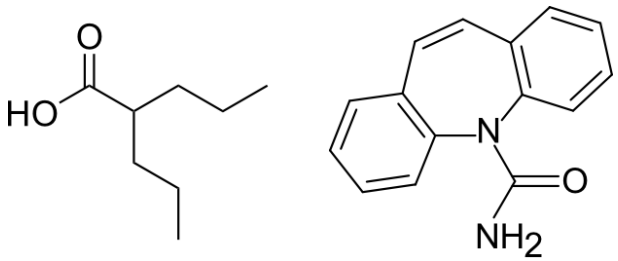
Comme l'illustre la FIGURE 1.1, le premier niveau de ce code est constitué d'une lettre indiquant le groupe anatomique d'action, ainsi la lettre « N » désigne les substances agissant sur le système nerveux central. Le second niveau, marque l'appartenance à un sous-groupe thérapeutique, « N02 » pour les analgésiques et « N03 » pour les antiépileptiques, par exemple. La lettre du troisième niveau de classification est caractéristique du sous-groupe pharmacologique, ainsi le code « N02A » désigne les opiacés et « N02B » les autres analgésiques et antipyrétiques. Le quatrième niveau, également représenté par une lettre désigne le sous-groupe chimique par exemple « N02AA » pour les alcaloïdes naturels de l'opium et « N02AB » pour les dérivés de la phénylpipéridine. Enfin, le nombre du dernier niveau fait référence à une molécule en particulier, ainsi le code ATC de la morphine est « N02AA01 » celui de l'oxycodone « N02AA05 » (WHOCC, 2010).

Comme tout système de classification, le principe de l'ATC a ses limites. En effet, une molécule peut avoir plusieurs codes selon sa formulation, son mode d'action ou sa cible thérapeutique. La codéine en est un exemple. Cet alcaloïde naturel de l'opium peut être codé « N02AA79 », « N02AA59 » ou encore « R05DA04 » selon qu'il se trouve dans des formulations analgésiques avec ou sans psycholeptiques ou dans des préparations antitussives. Les médicaments classés N comptent, malgré certaines

exceptions, la grande majorité des molécules psychotropes, la réciproque n'étant pas vraie. Enfin, le classement ATC s'adresse par définition aux molécules médicamenteuses, excluant de fait, les stupéfiants.

1.3. Les psychotropes, un ensemble hétérogène

Les psychotropes constituent un ensemble hétérogène de molécules. Cela se traduit par des différences en termes d'effets pharmacologiques (stimulant, régulateur ou sédatif) ainsi de propriétés physico-chimiques. Celles-ci peuvent se manifester jusqu'au sein d'une même classe thérapeutique : les deux antiépileptiques acide valproïque et carbamazépine en sont un exemple parmi d'autres (FIGURE 1.2).



acide valproïque carbamazépine

FIGURE 1.2 – Illustration de la diversité structurale au sein d'une même classe thérapeutique : exemple de deux antiépileptiques couramment prescrits.

La conséquence de cette grande disparité est que ces composés présentent des propensions différentes à être dégradés ou non et à se répartir ou pas dans les différents compartiments environnementaux. La lipophilie des composés exprimée par le coefficient de partage octanol/eau log K_{ow} est par exemple un moyen d'estimer la propension d'une substance à s'adsorber sur une matrice solide et donc à être partiellement éliminer de la phase dissoute lors des traitements d'épuration ou dans l'environnement. Ainsi un log K_{ow} négatif indique un composé très hydrophile tandis qu'un log K_{ow} supérieur à 4 indique un composé franchement hydrophobe. Pour les composés psychotropes, ces valeurs peuvent être très disparates. Par exemple, la gabapentine (antiépileptique) présente un log K_{ow} de -1,1. Il est de 7,6 pour le Δ_9-tétrahydrocannabinol (molécule active du cannabis). Les fonctions chimiques des molécules, également très différentes, jouent un rôle sur leur devenir. Certains groupes chimiques sont, en effet, plus facilement biodégradables que d'autres. Ils peuvent également induire un état d'ionisation modifiant le comportement des composés vis à vis de l'adsorption. Le coefficient de partage apparent log D_{ow} permet de corriger le log K_{ow} en tenant compte de ce phénomène.

Toutes ces considérations sont développées en détail en ANNEXE 1.1 de ce chapitre. Elles mettent cependant en évidence la nécessité d'entreprendre une démarche de sélection devant un groupe de composés rassemblant de nombreuses molécules hétérogènes dont le devenir environnemental est régi par des paramètres multiples et complexes.

2. Démarche et paramètres de sélection

2.1. Démarche de sélection

L'ensemble des psychotropes représente plus d'une centaine de molécules parmi les molécules classées N ainsi que les drogues illicites, non classées dans l'index ATC. L'étude exhaustive de toutes ces molécules dans l'environnement n'est bien entendue pas envisageable, d'autant plus que le nombre d'analytes potentiels augmente exponentiellement en intégrant les métabolites et produits de transformation. Cela implique la nécessité d'une sélection d'une liste d'intérêt dans l'environnement. D'autres médicaments de consommation courante comme le paracétamol et des anti-inflammatoires non stéroïdiens ont également été intégrés à la démarche de séléction. Ces composés constituent la classe de polluants émergents les plus étudiés et sont, par conséquent, très documentés (Mompelat et al., 2009). De plus, en France comme à l'étranger et malgré les différences pouvant exister dans les pratiques médicales de chaque pays, ces molécules sont omniprésentes dans l'environnement. Leur suivi permet donc à la fois d'apporter de la robustesse en validant les résultats obtenus et de pouvoir établir des points de comparaison avec d'autres études dans les niveaux de contamination des milieux aquatiques.

Dans une démarche d'évaluation des risques environnementaux, l'Agence Européenne des Médicaments prévoit d'établir des priorités entre les substances pharmaceutiques. Cette approche se base sur le calcul du rapport des coefficients PEC (Predicted Environmental Concentration) et PNEC (Preticted No Effect Concentration) : si ce rapport est supérieur à un, il existe un risque potentiel. Les termes des équations mis en œuvre dans ce calcul prennent en compte différents paramètres comme les doses journalières consommées et la quantité journalière d'eaux usées générée par habitant, la fraction de substance active excrétée, le taux d'élimination dans les stations d'épuration, ou encore l'écotoxicité etc.… (Besse et al., 2007; EMCDDA, 2010). Comme le soulignent Besse et Garric dans une publication datant de 2008, ce processus est difficilement applicable à tous les composés à cause d'un manque d'information. Les auteurs préconisent donc une approche pragmatique utilisant les données pharmacologiques, environnementales et toxicologiques disponibles (Besse et al., 2007, 2008).

La démarche adoptée pour la sélection d'une liste de molécules psychotropes d'intérêt s'en inspire largement. Elle s'applique aux molécules psychotropes classées N, aux drogues illicites et aux analgésiques les plus couramment utilisés.

2.2. Paramètres de sélection : sources et devenir des substances pharmaceutiques dans l'environnement

Les sources d'introduction des médicaments à usage humain dans l'environnement sont multiples. Elles constituent un cycle à la fois technique, biologique et géologique (FIGURE 1.3). Tout d'abord, ces substances sont consommées. Puis, une fois métabolisées et excrétées, elles rejoignent la station d'épuration (STEP) via le réseau d'assainissement. En outre, les STEP recueillent non seulement les eaux usées domestiques mais également les rejets hospitaliers et industriels des usines de production pharmaceutiques. Toutefois, les eaux sanitaires domestiques, en rassemblant urines, fèces et déchets directs de médicaments non

consommés, constituent le principal vecteur de ce type de composés dans l'environnement. Dans les zones non raccordées au réseau, ces rejets sont directement introduits dans le milieu. Dans les autres cas, après traitements, les effluents de STEP sont rejetés dans les eaux superficielles. Ces rejets sont donc susceptibles de contenir des intermédiaires de synthèse, des substances natives, des métabolites ainsi que des produits de dégradation, constituant un mélange complexe pouvant lui-même avoir un effet sur l'écosystème récepteur. Enfin, une partie des boues d'épuration peut être épandue. Cela représente, avec les déchets directs en décharge de médicaments non consommés, une source de contamination des eaux souterraines par lixiviation et des eaux de surface par ruissellement. Le circuit d'assainissement de l'eau potable n'est pas représenté ici car il constitue à lui seul un cycle connexe dont les problématiques sortent du cadre environnemental fixé par cette étude.

La considération du cycle biogéochimique des substances pharmaceutiques met en évidence les points essentiels d'entrée et de devenir dans le milieu. Cela a permis d'établir la liste des critères de sélection pour le choix de molécules d'intérêt :

- la consommation
- la métabolisation
- l'élimination au cours du traitement et l'occurrence en sortie des STEP
- le devenir et l'occurrence dans l'environnement
- l'écotoxicité.

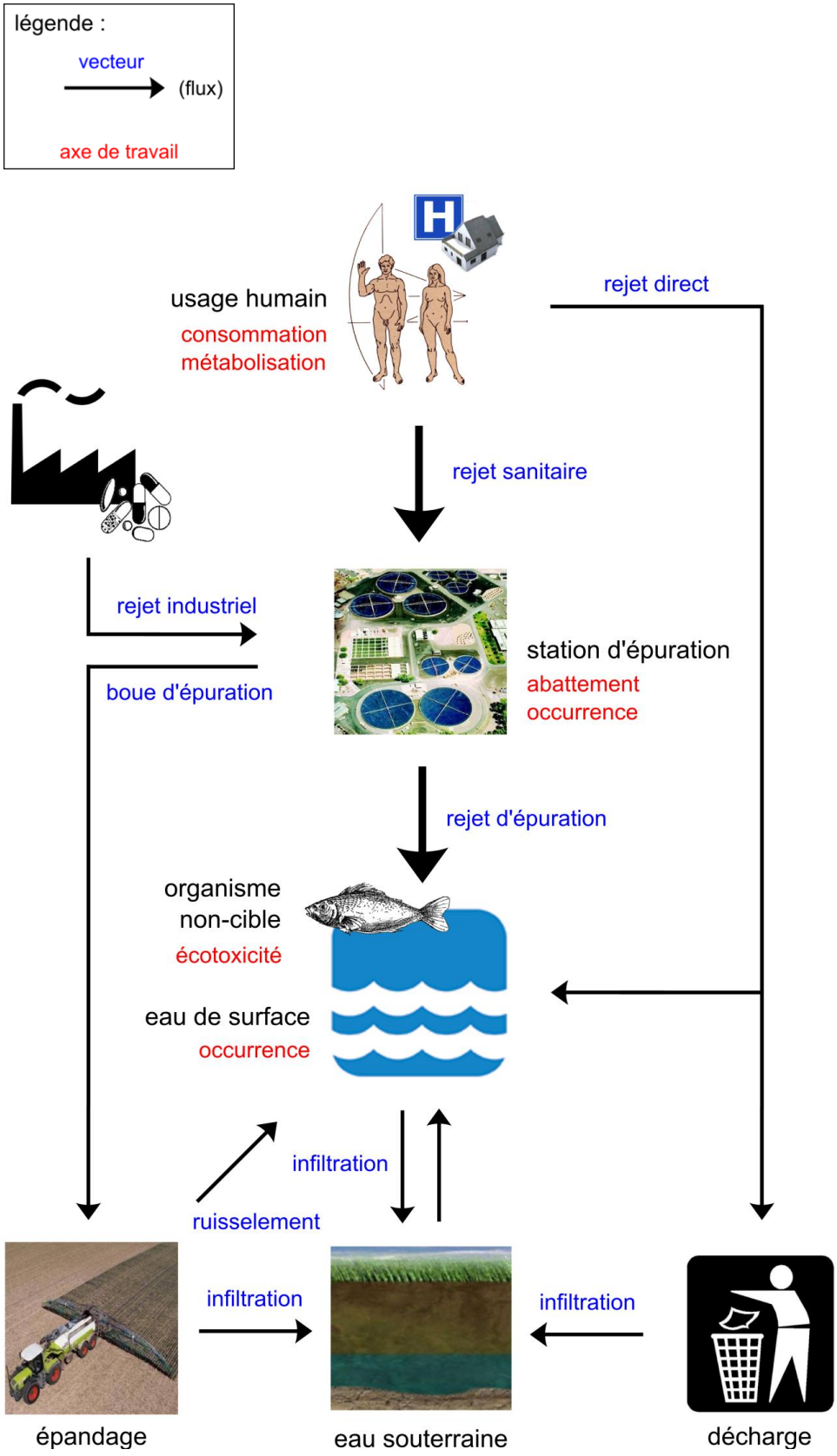


FIGURE 1.3 – Cycle biogéochimique des substances pharmaceutiques dans l'environnement.

3. Données de Consommation

L'accès aux données chiffrées de consommation des médicaments en France n'est pas chose aisée au regard de leur caractère confidentiel. Les molécules sélectionnées dans le cadre de ce travail n'échappent pas à la règle, d'autant plus si l'on considère le caractère illicite de bon nombre d'entre elles. Le travail d'évaluation des consommations s'est donc basé sur des sources publiques (bibliographiques, bases de données) publiées par des agences nationales, européennes et internationales.

3.1. Données de l'Agence française de sécurité des produits de santé

Tous les ans, l'Afssaps publie une « analyse des ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux en France » (AFSSAPS, 2011). La 11ème édition de ce rapport présente de façon non exhaustive les données de ventes pour l'année 2009 ainsi que l'évolution du marché sur la décennie. En 2009, le rapport met en évidence que parmi les 50 spécialités les plus vendues en officines, 7 d'entre elles contiennent un principe actif psychotrope.

rang	spécialité	principe actif	classe
1	doliprane®	paracétamol	antalgique
2	dafalgan®	paracétamol	antalgique
3	efferalgan®	paracétamol	antalgique
8	voltarène®	diclofénac	anti-inflammatoire
7	ixprim®	tramadol	antalgique
13	méthadone®	méthadone	traitement substitutif aux opiacés
15	lamaline®	paracétamol	antalgique
19	advil®	ibuprofène	antalgique
34	nurofen®	ibuprofène	antalgique
36	subutex®	buprénorphine	traitement substitutif aux opiacés
36	seresta®	oxazépam	anxiolytique
42	seroplex®	escitalopram	antidépresseur
44	atarax®	hydroxyzine	anxiolytique
46	zaldiar®	tramadol	antalgique
49	donormyl®	doxylamine	sédatif

TABLEAU 1.1 – Spécialités les plus vendues en quantité (nombre de boîtes) en officines, en France, en 2009 d'après le « top 50 » Afssaps pour l'année 2009 (AFSSAPS, 2011).

L'analyse confirme la place prépondérante des spécialités appartenant aux classes des antalgiques et notamment du paracétamol et de l'ibuprofène accessibles sans ordonnance. Bien que ce classement présente une information pertinente pour évaluer la consommation de médicaments en France, il doit cependant être considéré avec précaution. En effet, ce classement présente une estimation des quantités vendues en officines basée sur le nombre de boîtes d'une spécialité donnée. Ainsi, ce classement ne prend pas en compte qu'un même principe actif peut être commercialisé sous différentes spécialités ou génériques. A titre d'exemple, le tramadol qui, vendu notamment sous les spécialités ixprim® et zaldiar® respectivement 7ème et 46ème du classement, est enregistré selon sa forme galénique sous deux références dans chaque marque. Cet analgésique opioïde est aussi commercialisé en France sous 69 références différentes (CPAM, 2010). En outre, ce classement est

établi sans prendre en compte les dosages de principe actif (et indirectement la quantité du principe actif dans chaque boîte). Ainsi, le traitement substitutif aux opiacés subutex® et l'anxiolytique seresta® sont vendus dans des dosages allant de 0,4 à 8 mg de buprénorphine et de 10 à 50 mg d'oxazépam. Ces dosages peuvent atteindre plusieurs centaines de mg comme c'est le cas des principes actifs tel que le paracétamol ou l'ibuprofène.

L'analyse des ventes en officines sur 10 ans est exprimée en Doses Définies Journalières (DDJ). La DDJ représente la posologie moyenne par jour pour un médicament utilisé selon son indication principale chez l'adulte (WHOCC, 2010). Il est important de noter qu'il s'agit d'une grandeur non fixée qui peut faire l'objet de révision par l'OMS.

La FIGURE 1.4 décrit de façon générale l'évolution des ventes pour certains groupes thérapeutiques ATC-N, la FIGURE 1.5 détaille plus finement les tendances au sein de ces classes.

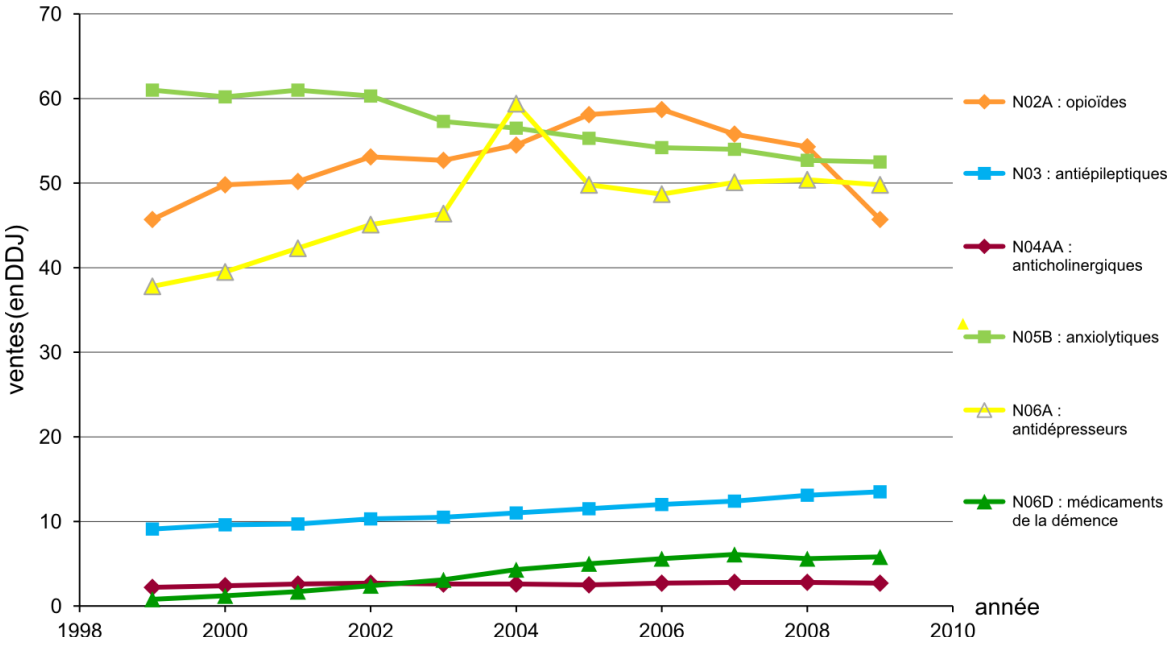


FIGURE 1.4 – Evolution des ventes (exprimée en DDJ) par classe thérapeutique des molécules classées ATC-N sur la période 1999-2009 d'après (AFSSAPS, 2011).

Les médicaments ATC-N les plus consommés sont les opioïdes, les anxiolytiques et les antidépresseurs (FIGURE 1.4). En 2009, la consommation d'opioïdes est revenue au même niveau qu'en 1999 après avoir connu une progression continue jusqu'en 2006. En outre, la catégorie « autres opioïdes » affiche un accroissement constant imputable au tramadol (FIGURE 1.5). Cette progression pourrait d'ailleurs se révéler plus prononcée dans les prochaines années par un report favorable de consommation de l'association dextropropoxyfène-paracétamol (Di-Antalgic®), retirée du marché (AFSSAPS, 2011). Malgré la baisse enregistrée, ils restent à un niveau élevé. La consommation d'anxiolytiques est en constante diminution sur la décennie (-14%) mais reste cependant importante (FIGURE 1.4). Dans ce groupe, les benzodiazépines se dégagent comme étant les principales molécules consommées (FIGURE 1.5). De plus, les hypnotiques apparentés aux benzodiazépines, portés par le zolpidem et le zopiclone, occupent également une

place importante parmi les médicaments du système nerveux central. Leur consommation est stabilisée sur les dernières années. Le marché des antidépresseurs, après avoir connu une forte augmentation jusqu'en 2004, semble arriver à maturation. Les inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine (ISRS) y occupent la place majoritaire alors que les inhibiteurs non sélectifs de recapture de la monoamine sont minoritaires et en perte de vitesse. Les antiépileptiques, bien que connaissant une augmentation constante, restent à un niveau moyen de consommation. Enfin, les médicaments de la démence, regroupant les quelques molécules utilisées dans le traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer, sont en progression constante depuis ces 10 dernières années.

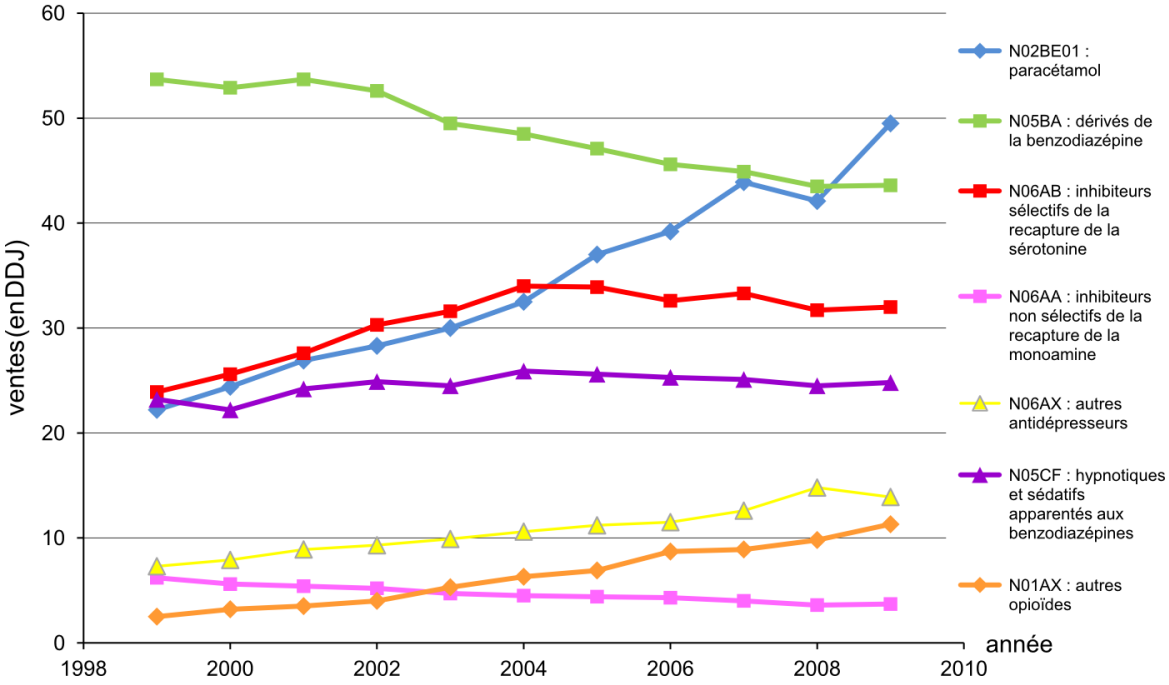


FIGURE 1.5 – Evolution des ventes (exprimée en DDJ) par sous-classe thérapeutique des molécules classées N sur la période 1999-2009 d'après (AFSSAPS, 2011).

Des données chiffrées et exprimées en kilogrammes de principes actifs pour une liste de plus de 100 molécules pour l'année 2004 ont été publiées par Besse et Garric (Besse et al., 2007, 2008). Les auteurs ont eu accès à la base de données confidentielle de l'Afssaps qui regroupe tous les médicaments vendus en France pour une année, à l'hôpital comme en officine, qu'ils soient achetés avec ou sans ordonnance. Parmi la liste publiée figurent 33 molécules psychotropes ainsi que le paracétamol et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), leur consommation en kilogramme est présentée en TABLEAU 1.2.

molécule	tonnage (kg)	molécule	tonnage (kg)
paracétamol	3 303 076	prazépam	2 166
ibuprofène	240 024	tianeptine	2 152
naproxène	37 332	clorazépate	2 109
carbamazépine	33 514	zopiclone	1 948
tramadol	25 897	lévomépromazine	1 699
lévodopa	24 996	certirizine	1 442
kétoprofène	21 697	fluvoxamine	1 121
diclofénac	9 896	baclofène	1 080
hydroxyzine	6 638	loxapine	961
sertraline	6 225	lorazépam	585
oxazépam	6 195	diazépam	526
paroxétine	5 515	tropatepine	355
cyamémazine	5 441	halopéridol	342
phénobarbital	3 915	clonazépam	275
fluoxétine	3 740	buprénorphine	270
citalopram	3 486	trihexyphénidyle	257
zolpidem	3 344	nordazépam	237
bromazépam	2 603	alprazolam	178
miansérine	2 424	escitalopram	5

TABLEAU 1.2 – Consommation annuelle (en kg) sur l'année 2004 pour une liste restreinte de molécules d'après Besse et Garric (Besse et al., 2007)

Le paracétamol (>3 000t) et l'ibuprofène (>200t) se distinguent très nettement comme les molécules les plus largement consommées. Pour les psychotropes, la carbamazépine et le tramadol se démarquent également avec une consommation de l'ordre de la dizaine de tonnes. Celle-ci est comprise entre 1 et 10 tonnes pour la majorité des autres substances psychoactives étudiées par Besse et Garric. Ce groupe de molécules comprend les principaux antidépresseurs et anxiolytiques. Enfin parmi les autres composés représentant des quantités consommées moins importantes (<1t) se trouvent notamment d'autres anxiolytiques de types benzodiazépines ainsi que la buprénorphine. Cela illustre parfaitement la prudence nécessaire pour rapprocher les informations disponibles sur les ventes et la consommation réelle en quantité. En effet, pour l'année 2004, le subutex® (buprénorphine) était 32ème du *« top 50 »* et aucune spécialité contenant de la carbamazépine n'y figurait alors que ce principe actif a été consommé à hauteur de 33 514 kg cette même année contre 270 kg pour la buprénorphine (AFSSAPS, 2006; Besse et al., 2007).

Ces données offrent donc une image plus complète de la réalité de la consommation de médicaments psychotropes en France. Toutefois, elles ne peuvent bien entendu pas compenser l'évolution dynamique, parfois rapide, du marché du médicament. En effet, les habitudes de prescription sont susceptibles d'avoir changé depuis 2004. L'escitalopram en est un exemple marquant. Alors qu'avec seulement 5 kg, sa consommation était marginale en 2004, la seule spécialité seroplex® est devenue le 42ème médicament le plus vendu en officines en 2009 (AFSSAPS, 2011; Besse et al., 2007).

Ainsi des données quantitatives de consommations plus récentes permettraient de se rapprocher d'avantage de ce que pourrait être la consommation actuelle. Dans cette optique, les bases de données de l'assurance maladie ont été utilisées pour calculer une estimation de la consommation pour l'année 2009.

3.2. Données de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie

En juin 2010, la CPAM a publié sa base de données MEDIC'AM qui présente des informations détaillées sur les médicaments remboursés sur la période 2004-2009 (CPAM, 2010). Cette base de données rassemble notamment le nombre de boîtes remboursées pour environ 13 000 références. Ainsi, toutes les informations pour les références contenant un principe actif classé ATC-N ont été extraites soit près de 2 000 entrées différentes. Puis une quantité de principe actif par boîte a été associée à chaque référence. Enfin, après multiplication par le nombre de boîtes remboursées puis en concaténant les données pour chaque molécule identique et en sommant les valeurs particulières, une valeur totale, exprimée en kg, a été obtenue pour tous les composés de la classe N.

La FIGURE 1.6 illustre ce calcul, avec deux références du prozac® 20mg. Le total fluoxétine a ensuite été déterminé par la somme des quantités des 44 références enregistrées. Dans le cas de médicament contenant une association de principes actifs, les valeurs ont été calculées pour chaque molécule.

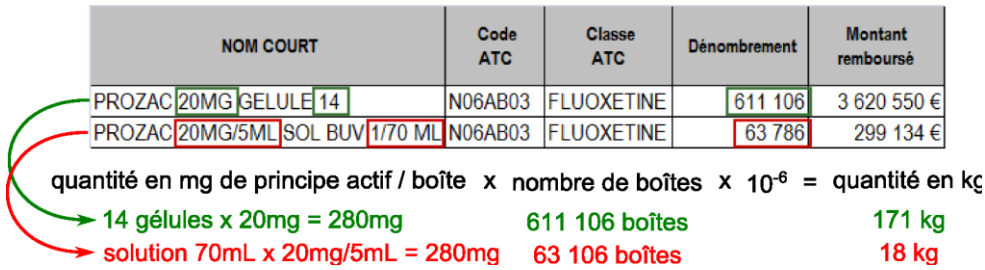


FIGURE 1.6 – Exemple de calcul des quantités consommées à partir de la base Medic'am sur deux formes galéniques du prozac® 20mg.

Une synthèse des quantités consommées estimées en kilogrammes de principes actifs est présentée en TABLEAU 1.3. Le calcul effectué repose sur des données ne couvrant que le régime général en France métropolitaine hors sections locales mutualistes soit environ 70% du champ tout régime en France entière. De plus, ni les médicaments délivrés dans le cadre hospitalier, ni ceux délivrés sans ordonnance ou achetés sur internet ne sont pris en compte. C'est pourquoi il s'agit d'une sous-estimation par rapport à la réalité de la consommation annuelle française. Afin de consolider les estimations obtenues, cette approche a été appliquée aux données de l'année 2004 et les résultats ont été comparés aux estimations publiées par Besse et Garric. Pour 26 des 38 molécules investiguées, des coefficients de corrélation supérieurs à 0,99 sont observés, au contraire pour 13 d'entre elles des variations pouvant atteindre 100% peuvent être observés. Cette approche présente donc des limites mais la comparaison avec les données rapportées par Besse et Garric permet néanmoins de conclure en la validité de cette stratégie. Elle autorise notamment la comparaison des ordres de grandeur de consommation des différents médicaments entre eux au sein d'un même jeu de données offrant par cette occasion une vision d'ensemble pour l'ensemble de cette classe.

molécule	tonnage (kg)	molécule	tonnage (kg)
paracétamol	2 173 815	topiramate	1 423
ibuprofène	147 550	citalopram	1 373
acide valproïque	77 454	clorazépate	1 343
piracétam	55 837	disulfiram	1 339
méprobamate	46 035	tianeptine	1 309
tramadol	39 511	milnacipran	1 146
gabapentine	35 266	zopiclone	1 111
kétoprofène	34 802	clotiazépam	1 089
lévétiracetam	30 081	clozapine	1 033
naproxène	21 844	oxazépam	986
acamprosate	20 628	floctafénine	953
carbamazépine	20 353	primidone	944
diclofénac	19 579	entacapone	935
lévodopa	16 000	lidocaïne	877
valpromide	14 810	phénytoïne	811
prégabaline	12 725	lévomépromazine	770
oxcarbazépine	11 591	moclobémide	713
venlafaxine	10 390	loxapine	699
amitriptyline	9 134	oxétorone	664
tétrazépam	7 434	mirtazapine	639
etifoxine	7 121	dosulépine	593
codéine	5 972	pyridostigmine	517
hydroxyzine	5 759	méthadone	513
acétylleucine	5 078	modafinil	484
amisulpride	5 070	amantadine	456
cyamémazine	3 738	fluvoxamine	431
lamotrigine	3 638	diazépam	395
paroxétine	3 182	mémantine	382
sertraline	2 910	clobazam	362
adrafinil	2 787	prilocaïne	362
tiapride	2 737	olanzapine	338
phénobarbital	2 711	lorazépam	318
bétahistine	2 486	dihydroergotamine	308
zolpidem	2 209	oxycodone	307
clomipramine	1 939	chlorpromazine	306
piribédil	1 927	naltrexone	289
duloxétine	1 886	éthosuximide	288
fluoxétine	1 839	maprotiline	253
bromazépam	1 677	tropatépine	251
morphine	1 660	zonisamide	242
prazépam	1 615	élétriptan	232
vigabatrine	1 611	buprénorphine	226
miansérine	1 603	galantamine	205
escitalopram	1 546	clonazépam	198
sulpiride	1 481	donépézil	198

TABLEAU 1.3 – Consommation estimée (en kg) des personnes couvertes par le régime général en France sur l'année 2009 pour les molécules ATC-N ainsi que les principaux AINS (calculée à partir de la base de donnée Medic'am (CPAM, 2010)).

3.3. Les substances illicites

L'UNOCD (United Nation Office on Drugs and Crime) est l'agence des Nations Unies dont la mission est notamment de proposer des solutions aux questions de trafics de produits illicites et de problèmes de toxicomanies à l'échelle mondiale. Cette institution publie chaque année son «World Drug Report » qui fait l'état des lieux de la situation internationale sur ces problématiques. Les prévalences annuelles[2] pour différents pays y figurent, les chiffres français pour les principales drogues illicites sont présentés en TABLEAU 1.4 (UNODC, 2010). Le cannabis s'en dégage comme étant de loin la substance illicite la plus consommée en France.

	prévalence annuelle
opiacés	0,47 (année 2007)
cocaïne	0,6 (année 2005)
amphétamines	0,2 (année 2005)
cannabis	8,6 (année 2005)

TABLEAU 1.4 – Prévalence annuelle exprimée en % de la population chez les 15-64 ans en France (d'après (UNODC, 2010))

L'EMCDDA (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addictions) est l'observatoire de référence des phénomènes de drogues et de toxicomanies au niveau européen dont l'OFDT (Observatoire Français des Drogues et des Toxicomanies) est l'équivalent au niveau national. Dans sa mission de diffusion de l'information, l'OFDT rédige des études de tendances et de consommation s'appuyant sur des enquêtes comme les Baromètres Santé de l'INPES (Institut National de Prévention et d'Education pour la Santé), sur des statistiques institutionnelles (police, douanes, etc.…) ainsi que sur les observations au niveau régional rapportées par le dispositif TREND (Tendances Récentes et Nouvelles Drogues). Le TABLEAU 1.5 présente une synthèse des données consommations fournies dans plusieurs publications de l'OFDT.

	18-25 ans		**26-44 ans**		**45-64 ans**		**ensemble**	
	2010 (n=2 899)	2005 (n=4 065)	2010 (n=9 240)	2005 (n=10 679)	2010 (n=9 679)	2005 (n=9 002)	2010 (n=21 818)	2005 (n=23 746)
cannabis	47,3	47,6	44,85	38,7	16,35	13,6	32,8	30,7
poppers	10,8	5,6	7,25	6,3	1,45	0,9	5,3	4,1
cocaïne	6	3,4	5,65	3,9	1,4	1,3	3,8	2,8
hallucinogènes*	4,9	3,4	4,85	3,7	1,2	1,4	3,2	2,8
ecstasy/MDMA	4,2	4	4,65	2,8	0,4	0,2	2,7	2
colles et solvants	2,7	2,2	2,7	2,6	0,85	0,6	1,9	1,8
LSD	2,1	1,4	2,4	1,9	1,1	1,3	1,8	1,6
amphétamines	2,1	1	2,15	1,8	1,3	1,4	1,7	1,5
héroïne	1,4	0,9	1,8	1,2	0,65	0,4	1,2	0,9

*champignons hallucinogènes

TABLEAU 1.5 – Expérimentation (exprimées en % de la population n) des principales substances illicites en France d'après (Beck et al., 2006, 2011).

[2] nombre de personnes d'une tranche d'âge donnée ayant consommé une drogue au moins une fois dans l'année en cours divisé par le nombre total de personne dans cette tranche d'âge.

Le cannabis reste de loin la substance illicite la plus consommée en France, plus de 13 millions de personnes déclarent en avoir déjà consommé et plus d'un million en consommer sur une base régulière (plus de 10 fois par mois) (Beck et al., 2006). La cocaïne prend la deuxième place de ce podium mais à des niveaux environ 10 fois moindre. Toutefois, depuis les années 90, le produit ne cesse de se démocratiser ce qui se traduit par une hausse significative des taux d'expérimentation (Beck et al., 2006, 2011). Les poppers (alkyles de nitrites) ont été interdits à la vente en France depuis juin 2011 (JORF, 2011). Les conséquences de ce décret sur les niveaux de consommation sont aujourd'hui encore inconnues. Les autres substances illicites sont consommées à des niveaux plus marginaux. Par ailleurs, l'OFDT a rapporté l'émergence d'une nouvelle drogue de synthèse la mCPP (méta-chloro-phénylpipérazine) qui, la plupart du temps, est vendue sous le nom MDMA (en 2009, elle a été retrouvée dans 70% des comprimés d'ecstasy) (Gandilhon et al., 2010). Elle n'a été classée stupéfiante qu'en juin 2011 (JORF, 2011). Les « legal highs » qui s'achètent en toute légalité sur internet ou en magasins spécialisés sont d'ailleurs un phénomène récent (Schmidt et al., 2011). La méphédrone, distribuée assez largement en Europe à partir de 2007, en fut le premier exemple avant d'être réglementée en 2010.

4. Métabolisation

Au sein de l'organisme, l'élimination de tout médicament ou substance xénobiotique passe par une transformation qui a pour but général de rendre une molécule plus hydrophile afin de faciliter son excrétion. Ce processus de réactions enzymatiques est appelé métabolisme (Nahler, 2009). Il vise en général la détoxication et la perte d'activité. Toutefois, les métabolites produits peuvent être pharmacologiquement actifs, voir même présenter des effets toxiques (Zanger et al., 2008). C'est notamment le cas des médicaments de type prodrogues qui ne sont conçus pour adopter leur forme bioactive qu'une fois métabolisés.

Le métabolisme d'un xénobiotique peut prendre place au sein de différents tissus comme le rein, le poumon, l'intestin ou encore le foie, siège principal de ces transformations. Les réactions de métabolisme sont classiquement distinguées en deux phases dites I et II qui peuvent être séquentielles ou indépendantes. En effet, un métabolite suffisamment hydrosoluble après la phase I peut être excrété tout comme un xénobiotique peut subir uniquement une réaction de phase II (Kadlubar et al., 2010). La phase I consiste en une fonctionnalisation préliminaire à la conjugaison en phase II (Offermanns et al., 2008a). Les cytochromes P450 (CYPs) du foie sont les acteurs principaux responsables des transformations de phase I. Il s'agit le plus souvent de réactions d'oxydation (Zanger et al., 2008). S'ils ne sont pas suffisamment hydrophiles, les métabolites fonctionnalisés de la première phase (amine, alcool, acide carboxylique) sont conjugués par des enzymes transférases lors de la seconde étape. Il en existe plusieurs types : les glutations S-transférases (GSTs), les UDP-glucuronyl transférases (UGTs), les sulfotransférases (SULTs) et les N-acétyltransférases (NATs). La glucuroconjugaison impliquant les UGTs constitue la voix principale de métabolisation en phase II (Kadlubar et al., 2010).

Les mécanismes mis en jeu lors de la métabolisation d'un xénobiotique sont schématisés en FIGURE 1.7.

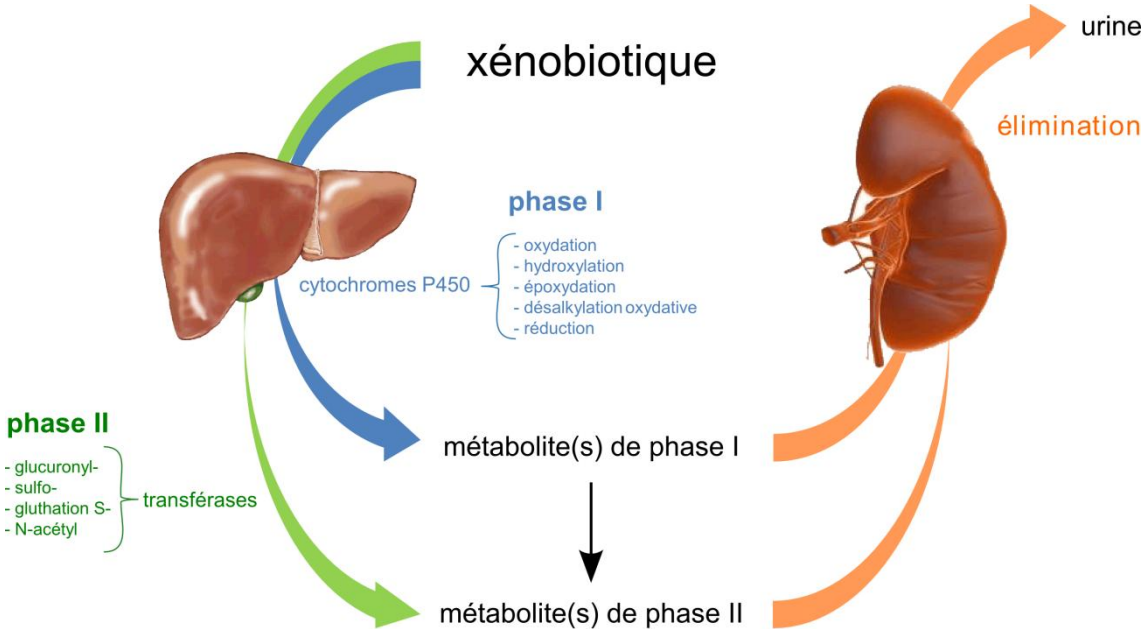


FIGURE 1.7 – Schéma de principe du métabolisme d'un xénobiotique

Les études pharmacocinétiques sont un passage obligé pour tout dépôt d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). Le métabolisme de chaque médicament commercialisé est donc connu, or l'accès à cette information demeure difficile, le dossier d'AMM n'étant pas un document public. Toutefois, l'ouvrage de référence *« Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man »* écrit par R. Baselt recueille l'état des lieux des connaissances en matière de métabolisme sur un nombre important de médicaments et de drogues (Baselt, 2009). Le TABLEAU 1.6 présente les données de métabolisme recueillies pour les principaux médicaments de chaque classe thérapeutique N, un myorelaxant apparenté aux benzodiazépines, les principaux AINS, un antihistaminique utilisé comme sédatif ainsi que les principales drogues illicites. Les taux d'excrétion urinaire des composés parents ainsi que leurs principaux métabolites, sous forme libre ou conjuguée, y sont détaillés pour chaque composé.

Certains composés parents sont peu voire non métabolisés et sont excrétés principalement sous une forme inchangée telle que la gabapantine ou sous une forme conjuguée telle que la codéine, la morphine, l'acétaminophène, le kétoprofène, le naproxène, l'acide valproïque, le lorazépam, l'oxazépam, le lormétazépam, la galantamine, la mémantine ou la buprénorphine. Au contraire, certains composés subissent des processus de métabolisation poussés (notamment phase 1 du métabolisme) qui conduit à la formation de métabolites excrétés sous forme libre ou conjuguée. Le norfentanyl (principal métabolite du fentanyl), le 4'-hydroxydiclofénac (principal métabolite du diclofénac), l'*O*-desméthylvenlafaxine (principal métabolite de la venlafaxine), le 11-nor-9-carboxy-Δ9-tétrahydrocannabinol (principal métabolite du Δ9-tétrahydrocannabinol) ou la benzoylecgonine (principal métabolite de la cocaïne) en sont quelques exemples.

Les processus du métabolisme humain conduisent donc à l'excrétion de mélanges complexes de composés parents/métabolites sous formes libres ou conjuguées. De plus, une partie des principes actifs ingérés peut être potentiellement non assimilée par l'organisme et excrétée dans les fécès. Quelle que soit la voie d'élimination les composés excrétés seront acheminés, via les réseaux d'assainissement, jusqu'aux ouvrages de traitement des eaux usées résiduaires urbaines.

classe thérapeutique (ATC)	nom de la molécule	taux d'excrétion du composé parent (en %)		principal(aux) métabolite(s)	taux d'excrétion du(des) métabolite(s) en (%)		référence
		libre	conjugué		libre	conjugué	
anesthésiques (N01)	kétamine	2		norkétamine	2		(Baselt, 2009)
				dihydronorkétamine	16		
				conjugués de dérivés hydroxylés de kétamine	80		
	acide hydroxybutyrique	<5	ξ*				
analgésiques (N02)	codéine	5-1	32-46	morphine	5	13	(Baselt, 2009)
				norcodéine	10	21	
	morphine	7	75	normorphine	1	4	
	oxycodone	8	1	oxymorphone	0,3	1	(Baselt, 2009; Lalovic et al., 2006)
				noroxymorphone	6	9	
				noroxycodone	22	1	
	fentanyl	0,4-6	ξ	norfentanyl	26-55	ξ	(Baselt, 2009; Verplaetse et al., 2010)
	tramadol	29	ξ	O-desméthyltramadol	20		(Baselt, 2009)
				nortramadol	17		
				O-desméthylnortramadol	20		
	acétaminophène	2	45-55 (gluc.) 20-30 (sulf.)	cystéine	ξ	15-55	(BIAM)
				acide mercapturique			
				méthoxyacétaminophène	4-5	ξ	
AINS (M01A)	diclofénac	ε **		4'-hydroxydiclofénac	environ 100%		(Baselt, 2009)
	ibuprofène	0-9		hydroxy-ibuprofène	9%	17	(Baselt, 2009; Besse et al., 2007)
				carboxy-ibuprofène	16%	19	
	kétoprofène	1	99	hydroxy-kétoprofène			(BIAM)
	naproxène	1-10	60	O-desméthylnaproxène	5	23	(Baselt, 2009)
antiépileptiques (N03)	phénobarbital	25-33	ξ	N-glucosylphénobarbital	24-30		(Baselt, 2009)
				p-hydroxyphénobarbital	18-19		
	clonazépam	ε	ξ	3-hydroxy-7-amino-clonazépam	49-69		
				3-hydroxy-7-acétamidoclonazépam			
	carbamazépine	1	ξ	carbamazépine-10,11-epoxide	2		(Baselt, 2009; Mompelat et al., 2009)
				trans-10,11-dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine	10-12		
	oxcarbazépine	1-5	ξ	10,11-dihydro-10-hydroxy-carbamazépine	27	9-49	(Baselt, 2009; Walker et al., 1995)
				trans-10,11-dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine	4		
	acide valproïque	1-4	59	acide 3-cétovalproïque	23	ξ	(Baselt, 2009)
	gabapentine	100					(Walker et al., 1995)

TABLEAU 1.6 – Données de métabolisme (taux excrétion urinaire en % arrondi à l'unité) pour une sélection de psychotropes, d'AINS et du paracétamol

classe thérapeutique (ATC)	nom de la molécule	taux d'excrétion du composé parent (en %)		principal(aux) métabolite(s)	taux d'excrétion du(des) métabolite(s) (en %)		référence
		libre	conjugué		libre	conjugué	
myorelaxant (M03)	tétrazépam	2	ξ	diazépam	33	ξ	(Baselt, 2009; BIAM)
				nordazépam	10	ξ	
psycholeptiques (N05)	alprazolam	20	ξ	α-hydroxyalprazolam	ξ	ξ	(Baselt, 2009)
				HMTBP (analogue de la chlorobenzophénone)			
				3-hydroxy-5-méthyltriazolyl			
	diazépam	ε	ξ	oxazépam	ξ	33	
				nordazépam	ξ	20	
				4'-hydroxydiazépam			
				témazépam			
	lorazépam	ε	75	métabolites mineurs (hydroxylés et dérivés de la quinazoline)	ξ	14	
	oxazépam	ε	61	métabolites hydroxylés	ξ	<5	
	bromazépam	2	ξ	3-hydroxy-bromazépam	ξ	20	
				produit hydroxylé du clivage sur cycle à 7	ξ	40	
	clorazépate	2-6	ξ	nordiazépam	1	ξ	
				oxazépam	ξ	90	
	nordiazépam			oxazépam	100		
	prazépam	ε	ξ	oxazépam	ξ	30-59	
				3-hydroxyprazépam	ξ	3-35	
	hydroxyzine	ξ		norhydroxyzine, cétirizine	ξ		
	méprobamate	5	ξ	hydroxyméprobamate	ξ	ξ	
	lormétazépam	<1	>70	lorazépam	ξ	6	
	zolpidem	ξ	ξ	acide zolpidem 6-carboxylique	2-10	ξ	
				acide zolpidem phényl-4-carboxylique	33-48	ξ	
	zopiclone	4,50	ξ	zopiclone-N-oxyde	12	ξ	
				N-desméthylzopiclone	ξ	ξ	
IMA[1] (N06AA)	amitriptyline	1	ξ	10-hydroxynortriptyline	38		(Baselt, 2009)
	doxépine	ξ	18-23	nordoxépine	ξ	ξ	
	imipramine	ξ	ξ	désipramine, N-oxy et glucuro- conjugué	70	ξ	
ISRS[2] (N06AB)	citalopram	12	<1	N-desméthylcitalopram	12	ξ	(Baselt, 2009)
	fluoxétine	<10	ξ	norfluoxétine	ξ	ξ	
	paroxétine	<2	ξ	(−)-trans-4-[4-(4'-fluorophényl)-3-piperidinylméthoxy]-2-méthoxyphénol	ξ	25 (17 sulf. 8 gluc.)[a]	
	sertraline	0,2	ξ	desméthylsertraline	ξ	ξ	(Kosjek et al., 2012)

TABLEAU 1.6 – Données de métabolisme (taux excrétion urinaire en % arrondi à l'unité) pour une sélection de psychotropes, d'AINS et du paracétamol (suite)

classe thérapeutique (ATC)	nom de la molécule	taux d'excrétion du composé parent (en %)		principal(aux) métabolite(s)	taux d'excrétion du(des) métabolite(s) (en %)		référence
		libre	conjugué		libre	conjugué	
autres antidépresseurs (N06AX)	venlafaxine	5	ξ	O-desméthylvenlafaxine	29-48	ξ	(Baselt, 2009)
	miansérine	5	ξ	N-desméthylmiansérine	ξ	majorité	
				N-miansérine oxyde et composé 8 hydroxylé			
	tianéptine	3	ξ	N-deséthyltianeptine	5	ξ	
				N-desbutyltianeptine	11	ξ	
				produit oxydé et cyclisé de la N-deséthyltianeptine	13	ξ	
sympathicomi-métiques centraux (N06BA)	amphétamine	30 (74<pH7<1)	ξ	p-hydroxy amphétamine conjuguée	ξ	ξ	(Cody, 2005)
	méthamphétamine	40 (76<pH7<2)	ξ	amphétamine	7 si pH < 7 0,1 si pH > 7	ξ	
excitants légers	caféine	2	ξ	acide méthylurique	28	ξ	(Baselt, 2009)
				méthylxanthine	10	ξ	
	nicotine	10	ξ	cotinine	13	13	(Heinrich-Ramm et al., 2002)
				trans-3'-hydroxycotinine	34	7	
médicaments anti-démence (N06D)	donépézil	25	ξ	6-O-desméthyldonépézil	2	5	(Tiseo et al., 1998)
				desbenzyldonépézil	6		
				5-O-desméthyldonépézil	1	2	
	galantamine	24-39	10	O-desméthylgalantamine	ξ	26	(Baselt, 2009)
				galantamine-N-oxyde	9	ξ	
	mémantine	48	27				
	rivastigmine	ξ	ξ	dérivé décarbamylé	40	ξ	
substitutifs aux opiacés (N07BC)	buprénorphine	ε	55	norbuprénorphine	ξ	19	(Baselt, 2009)
	méthadone	5-50 / f(pH)	ξ	2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrrolidine	3-25	ξ	
antihistaminique (R06A)	doxylamine	ξ		nordoxylamine	ξ		(Baselt, 2009)
				dinordoxylamine			
drogues illicites	Δ9-tétrahydrocannabinol	NC	ξ	11-nor-9-carboxy-Δ9-tétrahydrocannabinol	la majorité		(Burstein, 1999)
	héroïne	0,10	ξ	morphine	4	38	(Baselt, 2009)
				6-acétylmorphine	1,3	ξ	
	MDMA (3,4-méthylène-dioxy-N-méthylamphétamine)	26	ξ	3-méthoxy-4-hydroxy-méthamphétamine	23	ξ	(Gomes et al., 2010; Shima et al., 2007)
				3,4-di-hydroxy-méthamphétamine	20	ξ	
				MDA	1	ξ	
	cocaïne	1-9	ξ	benzoylecgonine	35-54	ξ	(Baselt, 2009)

* ξ : présence mentionnée mais quantité non communiquée. **ε : à l'état de traces, quantité non précisée par l'auteur. : donnée absente

[1] : inhibiteurs non sélectifs de la recapture des mono-amines [2] : Inhibiteurs Sélectifs de Recapture de la Sérotonine [a] : gluc. = glucuro-conjugué, sulf. = sulfo-conjugué

TABLEAU 1.6 – Données de métabolisme (taux excrétion urinaire en % arrondi à l'unité) pour une sélection de psychotropes, d'AINS et du paracétamol (suite)

5. Devenir et élimination dans les stations d'épuration

Comme il l'a été évoqué précédemment, les ouvrages de traitement des eaux résiduaires urbaines jouent un rôle central dans le cycle biogéochimique des substances médicamenteuses dans l'environnement. Ils représentent le centre de collecte des eaux domestiques et hospitalières ce qui en fait le principal point de rejet de ce type de pollution (Daughton et al., 1999).

5.1. Les procédés usuels de traitement des eaux usées

Les polluants présents en entrée de STEP (STation d'EPuration des eaux usées) sont de différentes natures et nécessitent un traitement adapté. C'est pourquoi, la dépollution des eaux usées repose sur la mise en œuvre de procédés multiples dont chacun joue un rôle particulier (FIGURE 1.8). Le traitement préliminaire (en vert) permet l'élimination des matières en suspension et des graisses. Le traitement primaire (en rouge), quant à lui, s'attache à supprimer les produits colloïdaux ainsi qu'une partie des produits solubles, tâche que vient compléter le traitement secondaire (en bleu) (Boeglin, 1999; Sibony et al., 1993). Pour faciliter la lecture de cette partie, la description des principaux procédés d'épuration est détaillée en ANNEXE 1.2.

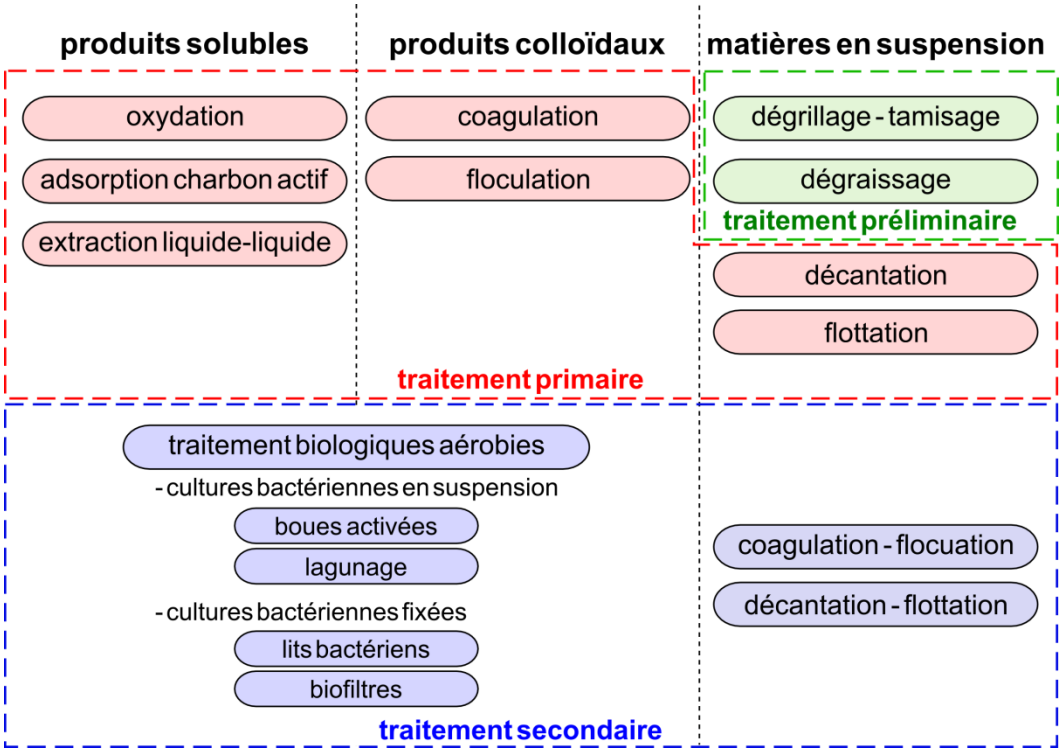


FIGURE 1.8 – Procédés de traitements de la pollution organique des eaux urbaines d'après (Boeglin, 1999; Sibony et al., 1993).

La STEP est le siège de phénomènes physiques, chimiques et biologiques visant à la dégradation des polluants présents dans les eaux résiduelles. L'abattement des produits pharmaceutiques dans les stations d'épuration est donc fonction de nombreux paramètres et leur efficacité peut présenter une certaine variabilité.

5.2. Sources de variabilité dans l'efficacité des traitements

La nature physico-chimique des molécules est, bien entendu, déterminante dans le devenir des substances au travers des procédés d'épuration. Il existe également des facteurs responsables d'une variabilité inter-molécule dans les rendements du traitement des eaux usées.

5.2.1. Variabilité durant le traitement primaire

Durant le traitement primaire, l'efficacité des étapes de coagulation et de floculation est liée à la nature et à la quantité de réactif introduit ainsi qu'au contrôle du pH. Par exemple, les conditions optimum sont un pH compris entre 6 et 7,4 pour un sel d'aluminium (Al^{3+}) et supérieur à 5 pour un sel de fer (Fe^{3+}). Or en milieux aqueux, ces cations forment des hydrates ($Al(OH)_2^+$ ou $AlOH^{2+}$) et cette hydrolyse libère des ions H^+ induisant une chute de l'alcalinité du milieu. La correction du pH peut être nécessaire à une coagulation optimale. Les étapes de coagulation-flottation sont elles liées au dimensionnement des installations et à la technologie utilisée (traitement simple ou lamellaire etc…). Enfin, le temps de résidence hydraulique est déterminant pour le traitement primaire dans sa globalité.

5.2.2. Variabilité durant le traitement secondaire sur boue activée

Le traitement secondaire sur boue activée possède également, en plus de la nature et la composition des boues, des sources de variabilité dans son efficacité. D'abord, l'oxygène étant indispensable au développement de la biomasse présente dans la boue, le temps d'aération, qui détermine directement la quantité d'oxygène fournie au système, apparaît naturellement comme un second paramètre d'influence. Le contrôle du pH est également vital pour la croissance des microorganismes dont la zone de tolérance se situe entre 5 et 9 (Sibony et al., 1993). De plus, l'âge des boues c'est-à-dire le temps moyen de résidence des boues à l'intérieur du réacteur influence grandement l'efficacité de l'épuration. En effet, chaque culture bactérienne comporte différentes phases de développement (Sibony et al., 1993). Celles-ci forment un cycle, dont la cinétique est spécifique à chaque espèce bactérienne. Cela permet d'expliquer que chacune d'entre elles possède un âge minimal de boue correspondant au temps nécessaire à l'installation d'une population stable. La période minimale nécessaire à la dégradation de la plus grande partie des composés biodégradables est d'environ 10 jours (Poseidon, 2006). Par ailleurs, une boue trop vieille participe à la baisse de la biodégradation car l'augmentation de la quantité de boue stabilisée contribue à diminuer le rapport en matière active/inerte dans le milieu et donc à défavoriser la cinétique de dégradation des matières organiques (Poseidon, 2006). L'efficacité du traitement sur boue activée est également température-dépendante. Entre les périodes estivales et hivernales, la baisse de la température de l'ordre d'une dizaine de degrés dans les réacteurs de station d'épuration est par exemple responsable d'une baisse significative du taux d'élimination des substances biodégradables (Sui et al., 2011; Vieno et al., 2005). Une équipe finlandaise reporte une diminution moyenne de 25% des rendements d'élimination de cinq produits pharmaceutiques durant les mois d'hiver. Les auteurs suggèrent que cette baisse d'efficacité est due à la température de l'eau : 7°C en mars contre 21°C en août (Vieno et al., 2005). Enfin tout comme dans le cas du traitement primaire, l'abattement de la pollution au court du traitement sur boue activée est croissant avec le temps de résidence hydraulique. Ceci explique une moins bonne dégradation de la pollution organique par temps de pluie (Tauxe-Wuersch et al., 2005). La diminution du temps de contact à laquelle s'ajoute la dilution des produits présents ne favorisent en rien une élimination optimale (Poseidon, 2006). A la suite

d'épisodes pluvieux, Tauxe-Wuersh *et al.* ont observé une diminution importante de l'élimination de l'ibuprofène et du kétoprofène dans les stations d'épuration suisses avec des débits parfois trois fois plus élevés qu'en période sèche (Tauxe-Wuersch et al., 2005).

Dans un climat où les hivers sont froids et pluvieux, la combinaison des facteurs de température et/ou de précipitation induit une perte d'efficacité durant cette période (Castiglioni et al., 2006a; Sui et al., 2011; Tauxe-Wuersch et al., 2005; Vieno et al., 2005). Toutefois, l'augmentation des précipitations ne pose pas toujours ce problème (Sui et al., 2011), en effet il existe deux types de réseaux d'assainissement, les systèmes unitaires et séparatifs. Les premiers sont plus rudimentaires et accueillent aussi bien les eaux usées que les eaux pluviales ce qui présente l'avantage d'être simple et économique. Par contre, ce type de réseau est sensible aux conditions climatiques. Ainsi des pluies intenses peuvent entraîner une perte d'efficacité voire un débordement au niveau des stations d'épuration et par voie de fait, un risque environnemental. Les réservoirs d'orages peuvent apporter une réponse partielle à ce problème. Le deuxième type de réseau, dit séparatif, fait le distinguo entre les eaux et leur associe deux voies d'évacuation, l'une destinée à être traitée, l'autre à rejoindre le milieu naturel. Cela permet de s'affranchir du problème de l'excédant hydrique en cas de pluie, mais cette solution est également plus coûteuse et sujet à des erreurs de branchement qui, comme le souligne un rapport de l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et techniques, a pu atteindre 40% dans les nouvelles villes de la région parisienne (Deutsch, 2003). Le choix de l'un ou l'autre des réseaux n'est donc pas évident et répond à des enjeux politiques, techniques et économiques.

De nombreux paramètres influent donc sur l'efficacité des traitements d'épuration. Cela peut conduire à une grande variabilité dans les abattements. C'est pourquoi il est primordial d'étudier le devenir des substances pharmaceutiques au sein de la STEP.

5.2.3. L'approche AMPERES

Le projet AMPERES (Analyse des Micropolluants Prioritaires et Emergents dans les Rejets et les Eaux de Surface) conduit sur la période 2006-2009 avait pour objectifs de mesurer la composition en micropolluants des eaux usées et traitées afin d'évaluer l'efficacité d'élimination de différentes filières d'épuration vis-à-vis de ces contaminants. Parmi les 103 molécules organiques étudiées comptaient 9 composés psychotropes (carbamazépine, diazépam, nordazépam, fluoxétine, doxépine, amitriptyline, alprazolam, bromazépam et imipramine) ainsi que les principaux AINS et le paracétamol.

Soulier et *al.* rapportent la composition des eaux brutes et traitées ainsi que les rendements d'épuration de ces molécules notamment pour les procédés avec traitement secondaire sur boue activée en conditions aérobie, filière la plus courante en France (Soulier et al., 2011). Ainsi, le diazépam, le nordazépam, la fluoxétine, le paracétamol, le naproxène, le diclofénac, l'ibuprofène et le kétoprofène ont été quantifiés dans plus de 90% des échantillons d'eau brutes, la carbamazépine et le bromazépam dans plus de 80% des cas. L'imipramine et la doxépine ont quant à elles été analysées dans respectivement un peu plus de 60 et 40% des cas tandis que la fréquence de quantification de l'aprazolam n'a pas dépassé 10%. Dans les eaux traitées secondaires, tous ces composés sont quantifiés dans plus de 80% des échantillons sauf la doxépine, l'imipramine et l'alprazolam qui sont eux quantifiés dans moins de 60% des cas (Soulier et al., 2011). Les analyses à la sortie du traitement

secondaire révèlent que la plupart les substances étudiées sont présentes à des concentrations inférieures au $\mu g.L^{-1}$. En revanche, la carbamazépine, le paracétamol, le naproxène, le diclofénac, l'ibuprofène et le kétoprofène sont quantifiés dans des gammes de concentrations pouvant aller jusqu'à quelques $\mu g.L^{-1}$ (Soulier et al., 2011). Au regard des niveaux de concentrations en entrée de STEP, ces résultats indiquent que les traitements secondaires autorisent une bonne élimination pour la majorité des substances pharmaceutiques même si celle-ci est incomplète notamment pour le diclofénac et la carbamazépine (Soulier et al., 2011). Dans une volonté de caractériser au mieux le devenir de ces composés au travers de ce type de traitement, deux rendements d'élimination ont été calculés (Tahar et al., 2012). Le premier décrit l'abattement dans la phase dissoute tandis que le second rend compte de la dégradation réelle et de la part de migration dans les boues. Toutefois les difficultés analytiques liées d'une part aux niveaux de présence de ces molécules et d'autre part à la complexité de la matrice boue rendent le calcul du rendement global délicat. En effet les limites de quantification obtenues étaient parfois inappropriées à la mesure de traces (Tahar et al., 2012). C'est la raison pour laquelle seuls les rendements de la filière eau (phase dissoute ou totale) ont été considérés. Toutefois, en considérant les rendements pour l'ensemble des molécules pharmaceutiques, les collaborateurs du projet AMPERES sont forcés de constater que les STEP ne sont pas, dans l'état actuel des choses, conçues pour l'élimination des micropolluants organiques dans les systèmes aquatiques, les procédés d'élimination plus innovants (osmose inverse, filtration sur charbon actif) restant moins répandus dans l'hexagone (Tahar et al., 2012). C'est la raison pour laquelle, il est intéressant d'évaluer l'efficacité des traitements conventionnels vis-à-vis des molécules étudiées.

Aussi, à partir des données du projet AMPERES, Tahar *et al.* proposent une méthodologie pour prédire les rendements d'élimination de micropolluants pour les traitements secondaires sur boues activées. Celle-ci prend en compte des principaux mécanismes mis en jeu lors de ces procédés : l'adsorption et la biodégradation (voir ANNEXE 1.2). Les phénomènes d'évaporation sont ici négligés étant donnée la nature des molécules étudiées (Tahar et al., 2012). Cette méthodologie a été élargie à une liste de molécules psychotropes et est présentée en ANNEXE 1.3.

Ainsi certains profils se sont distingués de cette prédiction. En effet pour des molécules comme le Δ9-THC, le coefficient de partition est élevé et les fonctions chimiques sont propices à la biodégradation. Cela semble prédire un abattement important lors du traitement secondaire sur boues activée (ANNEXE 1.3). Le zopiclone présente quant à lui des caractéristiques diamétralement opposées. Pour d'autres molécules, des propensions à être dégradées selon un mécanisme plutôt qu'un autre peuvent être supposées. Toutefois, le cadre de cette approche ne permet pas d'estimer l'importance éventuelle de ces phénomènes.

Les conclusions d'une telle estimation apportent la confirmation de l'intérêt de l'étude de ces composés dont la dégradation dans le processus d'épuration ne peut pas toujours être affirmée mais restent toutefois limitées en terme prédictif. Les rendements d'abattement expérimentaux permettent en revanche de rendre compte du devenir réel d'une substance durant son séjour dans la station d'épuration.

5.3. Rendement d'abattement à l'épuration

Le TABLEAU 1.7 présente une synthèse bibliographique de données d'abattement dans la phase dissoute pour une liste non exhaustive de molécules psychotropes ainsi que l'acétaminophène et certains AINS.

molécule	taux d'abattement en STEP (*réf.*)	
acétaminophène	100%[a]	(Escher et al., 2011)
	98%[b]	(Ternes et al., 2001)
	>99%[a]	(Lardy-Fontan, 2008)
	>70%[a]	(AMPERES, 2010)
alprazolam	<10%[a]	(Lardy-Fontan, 2008)
amitriptyline	30-70%[a]	(AMPERES, 2010)
	<20%[a]	(Lardy-Fontan, 2008)
amphétamine	55-99%[a]	(Huerta-Fontela et al.,
benzoylecgonine	88-98%[a]	(Huerta-Fontela et al.,
	84-93%[a]	(Karolak et al., 2010)
	82%[a]	(Castiglioni et al., 2006b)
bromazépam	>70%[a]	(AMPERES, 2010)
	>70%[a]	(Lardy-Fontan, 2008)
carbamazépine	0%[a]	(Escher et al., 2011)
	7%[b]	(Ternes, 1998)
	<30%[a]	(AMPERES, 2010)
	8%	(Heberer, 2002)
	<40%[a]	(Heberer et al., 2005)
	0%	(Heberer, 2002)
	30%[a]	(Castiglioni et al., 2006a)
	<10%[a]	(Lardy-Fontan, 2008)
cocaïne	88-99%[a]	(Huerta-Fontela et al.,
	90-98%[a]	(Karolak et al., 2010)
	95%[a]	(Castiglioni et al., 2006b)
diazépam	<30%[a]	(AMPERES, 2010)
	<10%[a]	(Lardy-Fontan, 2008)
diclofénac	33%[a]	(Escher et al., 2011)
	9-75%[a]	(Stumpf et al., 1999)
	<30%[a]	(AMPERES, 2010)
	69%[b]	(Ternes, 1998)
	17%[a]	(Heberer, 2002)
	26%[a]	(Lindqvist et al., 2005)

molécule	taux d'abattement en STEP (*réf.*)	
doxépine	<30%[a]	(AMPERES, 2010)
	30-70%[a]	(Lardy-Fontan, 2008)
EDDP	21%[a]	(Castiglioni et al., 2006b)
fluoxétine	33%[a]	(Escher et al., 2011)
	30-70%[a]	(AMPERES, 2010)
	<30%[a]	(Lardy-Fontan, 2008)
gabapentine	57%[a]	(Escher et al., 2011)
ibuprofène	96%[a]	(Escher et al., 2011)
	22-75%[a]	(Stumpf et al., 1999)
	>70%[a]	(AMPERES, 2010)
	90%[b]	(Ternes, 1998)
	95-99%[a]	(Lardy-Fontan, 2008)
	38-93%[a]	(Castiglioni et al., 2006a)
imipramine	>70%[a]	(AMPERES, 2010)
kétoprofène	>70%[a]	(AMPERES, 2010)
	78%[a]	(Lindqvist et al., 2005)
MDMA	50-80%[a]	(Huerta-Fontela et al., 2008a)
	68-80%[a]	(Karolak et al., 2010)
	63%[a]	(Castiglioni et al., 2006b)
méthadone	20%[a]	(Escher et al., 2011)
	27%[a]	(Castiglioni et al., 2006b)
méthamphétamine	44-99%[a]	(Huerta-Fontela et al., 2008a)
morphine	92%[a]	(Escher et al., 2011)
	73%[a]	(Castiglioni et al., 2006b)
naproxène	>70%[a]	(AMPERES, 2010)
	66%[b]	(Ternes et al., 2001)
	80%[a]	(Lindqvist et al., 2005)
nordiazépam	<30%[a]	(AMPERES, 2010)
	<10%[a]	(Lardy-Fontan, 2008)
oxazépam	7%[a]	(Escher et al., 2011)
tramadol	21%[a]	(Escher et al., 2011)
venlafaxine	0%[a]	(Escher et al., 2011)

[a] : avec traitement sur boue activée
[b] : sans traitement sur boue activée

TABLEAU 1.7 – Taux d'abattement ($\%\Delta_{entrée\text{-}sortie}$) lors du traitement en station d'épuration.

Plusieurs tendances se dessinent dans leurs destins respectifs à travers le procédé d'épuration. L'acétaminophène, le kétoprofène et les substances stimulantes telles que la MDMA, la cocaïne et son métabolite principal la benzoylecgonine, sont généralement éliminés avec des rendements satisfaisants supérieurs à 70%. L'ibuprofène, l'amphétamine et la méthamphétamine sont également abattus dans des proportions importantes mais pouvant être très variables. Enfin, la venlafaxine, la carbamazépine, la méthadone et son métabolite principal l'EDDP, le tramadol ainsi que les benzodiazépines semblent être réfractaires aux traitements, avec des abattements en général inférieurs à 30%. Ces données fournissent de précieuses informations sur la propension d'un composé à être éliminé

lors des traitements d'épuration c'est-à-dire à s'adsorber ou à se biodégrader aisément. L'établissement de données d'abattement est donc nécessaire pour renforcer la compréhension du devenir des micropolluants dans les stations d'épuration. Toutefois ces données sont très disparates et quasi-inexistantes concernant les métabolites. De plus, la question de la déconjugaison des glucuronides est quant à elle systématiquement reléguée au second plan dans la mesure où il est communément accepté que les β-glucuronidases bactériennes opèrent la déconjugaison totale de ces composés. En effet, cela a été démontré pour certaines molécules et notamment pour les hormones stéroïdiennes (D'Ascenzo et al., 2003; Ternes et al., 1999). A bien des égards, les composés pharmaceutiques peuvent avoir des comportements différents les uns des autres. Dans une étude pour l'évaluation d'une prodrogue anticancéreuse, Thomas et *al.* ont reporté que ni les β-glucuronidases d'E. Coli ni celles d'origine bovine ne provoquaient la glucuro-déconjugaison souhaitée (Thomas et al., 2007). La prudence voudrait donc que la question la déconjugaison totale de tous les composés glucuronidés lors d'une épuration avec traitement sur boue activée soit établie.

La lecture des taux abattements expérimentaux demande également une certaine prudence et notamment un abattement élevé ne doit pas être interprété comme une absence de risque environnemental pour le milieu aquatique. Ce taux doit être relativisé car comme il l'a été souligné précédemment, un même composé peut subir, pour de multiples raisons, des variabilités dans son abattement (type de traitement, pH, condition hydrique, âge des boues, etc…). De plus, les niveaux de concentration, eux même liés à la consommation et à la métabolisation, ont une grande importance. Par exemple, au regard des niveaux de consommation, un taux de 90% d'abattement sur l'ibuprofène et sur l'amphétamine représente à l'évidence des quantités rejetées de plusieurs ordres de magnitude de différence. Il est donc très intéressant d'analyser les concentrations mesurées dans les effluents.
Données d'occurrence dans les effluents

5.4. Données d'occurrence dans les effluents

Le TABLEAU 1.8 présente les concentrations maximales mesurées en sortie de STEP en France alors que le TABLEAU 1.9 donne un aperçu des valeurs mesurées de part le monde. Le choix de représentation des concentrations maximales au lieu de valeurs moyennées constitue un parti pris délibéré. Effectivement, une démarche d'évaluation de risques doit considérer les pires scénarii possibles et non se limiter aux situations les plus probables.

Parmi les molécules étudiées, des données d'occurrence dans des effluents de station d'épuration française ont été publiées pour une vingtaine de molécules dont un peu plus de la moitié sont des psychotropes. Si l'information disponible peut sembler limitée, elle se situe à un niveau comparable à d'autre pays (26 composés pour la Grande Bretagne, 20 pour l'Espagne et 18 pour l'Allemagne). Cela dit, l'apport de nouvelles mesures reste un enjeu majeur dans l'hexagone comme à l'étranger à la fois pour des composés déjà caractérisés ainsi que pour des substances plus émergentes. Le besoin d'information concernant les métabolites et les produits de transformation est particulièrement évident : sur les 188 valeurs rapportées ici, seules 35 concernent des métabolites dont 14 pour la seule benzoylecgonine.

molécule	$C_{max.}$ (ng.L^{-1}) (*réf.*)	
acétaminophène	11 308	(Togola et al., 2007a)
	2 100	(Lardy-Fontan, 2008)
alprazolam	24	(Lardy-Fontan, 2008)
amitriptyline	6	(Togola et al., 2008a)
	58	(Lardy-Fontan, 2008)
benzoylecgonine	149	(Karolak et al., 2010)
bromazépam	65	(Lardy-Fontan, 2008)
buprénorphine	10	(Karolak et al., 2010)
carbamazépine	293	(Togola et al., 2007a)
	1 730	(Lardy-Fontan, 2008)
	78	(Poseidon, 2006)
cocaïne	21	(Karolak et al., 2010)
diazépam	90	(Lardy-Fontan, 2008)
diclofénac	487	(Togola et al., 2007a)

molécule	$C_{max.}$ (ng.L^{-1}) (*réf.*)	
diclofénac	1 510	(Lardy-Fontan, 2008)
	300	(Poseidon, 2006)
doxépine	15	(Lardy-Fontan, 2008)
fluoxétine	34	(Lardy-Fontan, 2008)
ibuprofène	219	(Togola et al., 2007a)
	900	(Lardy-Fontan, 2008)
	92	(Poseidon, 2006)
imipramine	2	(Lardy-Fontan, 2008)
kétoprofène	1 080	(Togola et al., 2007a)
MDMA	10	(Karolak et al., 2010)
naproxène	289	(Togola et al., 2007a)
nordiazépam	8	(Togola et al., 2008a)
	36	(Lardy-Fontan, 2008)

TABLEAU 1.8 – Concentrations maximales mesurées (ng.L^{-1}) dans les effluents de stations d'épuration en France (résultats arrondis à l'unité).

L'acétaminophène, l'ibuprofène, le kétoprofène, le naproxène, le diclofénac et la carbamazépine sont régulièrement mesurés, en France comme à l'étranger, à plusieurs centaines voire milliers de ng/L. Le tramadol, dont aucune donnée n'est disponible à ce jour en France, a également été quantifié dans ces ordres de grandeurs en Allemagne et en Grande-Bretagne. Le citalopram, la cocaïne, la codéine, le lorazépam, la méthadone, la morphine, l'EDDP, l'oxazépam et la venlafaxine ont été mesurés dans les effluents de STEP à travers le monde dans des concentrations de l'ordre la centaine de ng/L, parfois plus, mais toujours dans des niveaux moins importants que les molécules précédemment citées. Enfin d'autres composés (stimulants, antidépresseurs, anxiolytiques et leurs métabolites) ne sont pas complètement dégradés lors du traitement d'épuration. L'amphétamine, la MDA, la MDMA, la norcodéine, le nordazépam, la fluoxétine, la norfluoxétine, le desméthylcitalopram, le diazépam, la doxépine et la paroxétine sont caractérisés par des concentrations plus faibles : de la dizaine à la centaine de ng/L.

L'analyse des données révèle que les niveaux de concentration mesurés sont fortement dépendants de l'étude citée. Cela n'est pas surprenant, dans le sens où les traitements mis en œuvre et les facteurs d'influences peuvent changer. Les volumes d'eaux traités et la démographie sont également spécifiques au lieu de l'étude. Par exemple, en Belgique les concentrations les plus élevées de cocaïne ont été mesurées dans les grandes villes durant les week-ends (van Nuijs et al., 2009a). De plus, les protocoles d'échantillonnage déployés pour les mesures effectuées en station d'épuration peuvent conduire à des différences significatives dans les résultats (Ort et al., 2010a). Les questions relatives à l'échantillonnage et à la représentativité des résultats est discuté en chapitre 3 de ce manuscrit.

Les résultats rapportés ici témoignent que les substances pharmaceutiques sont systématiquement quantifiées dans les effluents de station d'épuration, signe que leur élimination est incomplète. Les eaux traitées constituent un mélange complexe de substances pharmaceutiques et de leurs métabolites auxquels s'ajoutent des produits de la dégradation. Le rejet chronique de ces effluents représente la voie principale de leur pénétration dans l'environnement (Daughton et al., 1999; Halling-Sørensen et al., 1998; Kümmerer, 2008).

molécule	$C_{max.}$ (ng.L^{-1})	pays	(réf.)
acétaminophène	6 000	Allemagne	(Ternes, 1998)
	1 826	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
amitriptyline	1 055	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	21	Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
amphétamine	210	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2008a)
	15	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2007)
	127	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
benzoylecgonine	750	Italie	(Zuccato et al., 2005)
	1 500	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2010)
	2 258	Belgique	(van Nuijs et al., 2009a)
	2 307	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2007)
	100*	Suisse	(Castiglioni et al., 2006b)
	368	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	425	Suisse	(Berset et al., 2010)
	318*	Espagne	(Postigo et al., 2008)
	510	Espagne	(Postigo et al., 2010)
	678	Belgique	(Gheorghe et al., 2008)
	100	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2008a)
	1 597	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
bromazépam	1 554	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2010)
buprénorphine	34	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
carbamazépine	175	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2010)
	632	Italie	(Mompelat et al., 2009)
	1 175	Suisse	(Ort et al., 2009)
	6 300	Allemagne	(Ternes, 1998)
	70	Espagne	(Santos et al., 2005)
	1 180	Suède	(Bendz et al., 2005)
	1 900	Allemagne	(Hummel et al., 2006)
	3 117	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
CBZ M1[a]	34	Allemagne	(Wick et al., 2009)
CBZ M2[b]	2 600	Allemagne	(Wick et al., 2009)
citalopram	238	Norvège	(Vasskog et al., 2008)
citalopram	382	Norvège	(Vasskog et al., 2006)
	207	Canada	(MacLeod et al., 2007a)
	58*	Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
cocaïne	120	Italie	(Zuccato et al., 2005)
	100	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2010)
	753	Belgique	(van Nuijs et al., 2009a)
	225	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2007)
	11*	Suisse	(Castiglioni et al., 2006b)
	149	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
	109	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	106	Suisse	(Berset et al., 2010)
	49	Allemagne	(Hummel et al., 2006)
	105*	Espagne	(Postigo et al., 2008)
	31	Espagne	(Postigo et al., 2010)
	1 898	Belgique	(Gheorghe et al., 2008)
	1 500	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2008a)
codéine	25	Allemagne	(Mompelat et al., 2009)
	274	Suisse	(Berset et al., 2010)
	2 704	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	397	Espagne	(Boleda et al., 2007)
	260	Allemagne	(Hummel et al., 2006)
	3 948	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
desméthyl-citalopram	300	Norvège	(Vasskog et al., 2008)
	330*	Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
	2	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2010)
diazépam	40	Allemagne	(Ternes, 1998)
	120	Allemagne	(Wolf et al., 2004)
	53	Allemagne	(Ternes et al., 2001)
diclofénac	365	Grèce	(Koutsouba et al., 2003)
	123	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
	850	Italie	(Mompelat et al., 2009)
	5 252	Suisse	(Ort et al., 2009)

TABLEAU 1.9 – Concentrations maximales mesurées (ng.L^{-1}) dans les effluents de stations d'épuration à l'étranger (résultats arrondis à l'unité).

molécule	$C_{max.}$ (ng.L^{-1})	pays	(réf.)
diclofénac	2 100	Allemagne	(Ternes, 1998)
	930	Brésil	(Stumpf et al., 1999)
	300	Finlande	(Lindqvist et al., 2005)
	120	Suède	(Bendz et al., 2005)
	570	Suisse	(Soulet et al., 2002)
dihydrocodéine	73	Allemagne	(Wick et al., 2009)
doxépine	190	Allemagne	(Wick et al., 2009)
	360	Allemagne	(Hummel et al., 2006)
EDDP	442	Suisse	(Berset et al., 2010)
	342	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	57	Espagne	(Boleda et al., 2007)
	1 150	Espagne	(Boleda et al., 2009)
	72*	Suisse	(Castiglioni et al., 2006b)
fluoxétine	8	Norvège	(Vasskog et al., 2008)
	99	Canada	(Metcalfe et al., 2003)
	1	Norvège	(Vasskog et al., 2006)
	15	Canada	(MacLeod et al., 2007a)
	176	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	4*	Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
gabapentine	21 417	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
ibuprofène	3 000	Brésil	(Stumpf et al., 1999)
	3 400	Allemagne	(Ternes, 1998)
	8 800	Espagne	(Santos et al., 2005)
	3 900	Finlande	(Lindqvist et al., 2005)
	150	Suède	(Bendz et al., 2005)
	227	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
kétoprofène	380	Allemagne	(Ternes, 1998)
	1 760	Espagne	(Santos et al., 2005)
	1 200	Finlande	(Lindqvist et al., 2005)
	330	Suède	(Bendz et al., 2005)
	23	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
lorazépam	532	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2010)
	438	Portugal	(NORMAN)
MDA	200	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2008a)
	1*	Italie	(Castiglioni et al., 2006b)
	25	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
MDMA	267	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2008a)
	29	Suisse	(Berset et al., 2010)
	156	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	5*	Italie	(Castiglioni et al., 2006b)
	91	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2007)
	376*	Espagne	(Postigo et al., 2008)
	120	Espagne	(Postigo et al., 2010)
méthadone	120	Allemagne	(Wick et al., 2009)
	25	Espagne	(Boleda et al., 2007)
	36*	Suisse	(Castiglioni et al., 2006b)
	128	Suisse	(Berset et al., 2010)
	171	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	732	Espagne	(Boleda et al., 2009)
méthamphétamine	90	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2008a)
morphine	29	Allemagne	(Wick et al., 2009)
	55*	Suisse	(Castiglioni et al., 2006b)
	81	Espagne	(Boleda et al., 2007)
	111	Allemagne	(Hummel et al., 2006)
	1 270	Suisse	(Berset et al., 2010)
	81	Espagne	(Boleda et al., 2007)
	819	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	110	Allemagne	(Hummel et al., 2006)
	30*	Espagne	(Postigo et al., 2008)
	81	Espagne	(Postigo et al., 2010)
naproxène	1 500	Suisse	(Ort et al., 2009)
	520	Allemagne	(Ternes, 1998)
	2 440	Espagne	(Santos et al., 2005)
	1 900	Finlande	(Lindqvist et al., 2005)
	250	Suède	(Bendz et al., 2005)
	400	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)

TABLEAU 1.9 – Concentrations maximales mesurées (ng.L^{-1}) dans les effluents de stations d'épuration à l'étranger (résultats arrondis à l'unité) (suite).

molécule	$C_{max.}$ (ng.L^{-1})	pays	(réf.)
norcodéine	151	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	23	Espagne	(Boleda et al., 2007)
nordiazépam	51,5	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
norfluoxétine	2	Norvège	(Vasskog et al., 2008)
	118	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	2*	Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
norsertraline	11	Norvège	(Vasskog et al., 2008)
	5*	Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
nortriptyline	184	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	4*	Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
oxazépam	180	Allemagne	(Wick et al., 2009)
	324	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2010)
	250	Allemagne	(Heberer, 2002)
	113	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	630	Allemagne	(Hummel et al., 2006)
paroxétine	12	Norvège	(Vasskog et al., 2008)
	2	Norvège	(Vasskog et al., 2006)
	240	Portugal	(NORMAN)
	5	Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
phénobarbital	30	Allemagne	(Heberer, 2002)
sertraline	15	Norvège	(Vasskog et al., 2008)
	2	Norvège	(Vasskog et al., 2006)
tramadol	370	Allemagne	(Wick et al., 2009)
	6278	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	610	Allemagne	(Hummel et al., 2006)
	59	Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008a)
venlafaxine	372	Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2010)
	343	Grande Bretagne	(Baker et al., 2011a)
	215*	Canada	(Lajeunesse et al., 2008)

*: valeur moyenne, a : 10,11-dihydrocarbamazépine, b : 10,11-dihydroxy-10,11-dihydrocarbamazépine

TABLEAU 1.9 – Concentrations maximales mesurées (ng.L^{-1}) dans les effluents de stations d'épuration à l'étranger (résultats arrondis à l'unité) (suite).

6. Devenir et occurrence dans l'environnement

En sortie de station d'épuration, tous les résidus pharmaceutiques ne sont donc pas éliminés. Les effluents déversés de manière chronique dans l'environnement contiennent des composés parents, des métabolites ainsi que des produits de transformation c'est à dire les composés issus de la dégradation de médicaments ou de métabolites par des réactions ayant lieu hors du corps humain (Kümmerer, 2008). Un nombre plus grand de molécules, dont beaucoup ne sont pas (encore) clairement identifiées, pénètre l'environnement aquatique et ce, à très faible concentration mais de façon continue. Leur devenir dans le milieu et leur partition dans les différents compartiments environnementaux (solide, liquide et biologique) sont régis par des phénomènes biotiques et abiotiques (FIGURE 1.9). Cet équilibre dynamique est lui-même lié aux propriétés physico-chimiques intrinsèques des composés comme la lipophilie et à l'état d'ionisation ainsi qu'aux propriétés du milieu comme le pH, l'ensoleillement, la part de résidus organiques dissous etc…

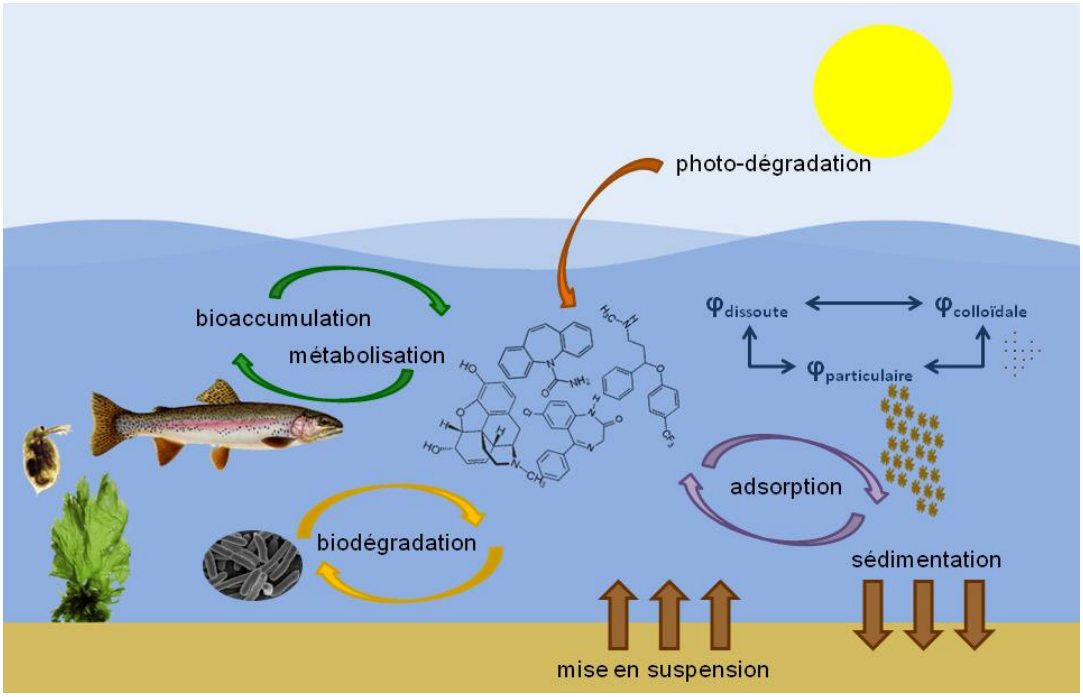


FIGURE 1.9 – Devenir des substances pharmaceutiques dans l'environnement.

6.1. Compartiment abiotique

Au sein du compartiment abiotique, les principales voies d'élimination des substances pharmaceutiques et de leurs résidus sont l'adsorption, la biodégradation et dans une moindre part la photodégradation (Kümmerer, 2008).

6.1.1. L'adsorption

L'adsorption explique une partie de la disparition des micropolluants en phase dissoute. Ce phénomène est intimement lié aux propriétés physico-chimiques des molécules. D'ailleurs, comme il l'a été évoqué dans la partie précédente, les

coefficients de partage permettent d'évaluer théoriquement la tendance d'un composé à migrer de la phase liquide vers la phase solide (voir partie 5.2 et annexe 2). Des approches expérimentales ont également été développées pour caractériser ces phénomènes de partition. Kwon *et al.* ont par exemple démontré la forte propension de la fluoxétine à se sorber sur les sédiments : jusqu'à 77% de la quantité initiale introduite après une journée. En d'autres termes, en présence de sédiment dans l'eau, son temps de demi-vie en phase dissoute est divisé par 22 (Kwon et al., 2006). L'analyse de sédiments de ruisseaux impactés par une station d'épuration a d'ailleurs révélé la présence de fluoxétine jusqu'à 19 ng/g. La norfluoxétine, la sertraline, la norsertraline, la paroxétine, le citalopram et la venlafaxine ont également été mesurés à des concentrations allant de 3 ng/g pour la norfluoxétine jusqu'à 26 ng/g pour la venlafaxine (Schultz et al., 2010). Une adsorption importante a également été constatée pour le diazépam, l'oxazépam et la carbamazépine avec respectivement 60, 30 et 40 % de la quantité introduite passée de la phase dissoute à la phase sédimentaire (Löffler et al., 2005). Dans le sud-ouest de la France, les concentrations dans la phase particulaire pour différents composés pharmaceutiques ont été étudiées dans un cours d'eau impacté par des rejets de stations d'épuration. Une décroissance de ces concentrations a été observée de long de la rivière pour atteindre des niveaux inférieurs à 10 ng/g à la confluence avec la Garonne. Cette étude a mis en évidence la présence dans la phase particulaire de molécules apolaires ainsi que de molécules polaires. En outre, l'existence de phénomènes de transferts entre phase solide et phase dissoute a été démontrée. Ceux-ci s'avèrent complexes et peuvent varier selon les composés et le milieu-considérés (Togola, 2006).

L'adsorption des substances pharmaceutiques reste fortement dépendante des conditions spécifiques du milieu comme le pH, la nature de l'eau et des sédiments ainsi qu'à la présence de biosolides (Brooks et al., 2009). Cela participe à la difficulté d'évaluer le devenir environnemental des substances pharmaceutiques. La photodégradation, autre processus abiotique, ne rend d'ailleurs pas la chose moins complexe.

6.1.2. La photodégradation

Les composés photosensibles peuvent subir une transformation directe par absorption de photons, les autres peuvent subir une photodégradation indirecte. La photolyse indirecte, induit l'activation de résidus organiques dissous qui absorbent les rayons UV et forment des intermédiaires radicalaires très réactifs ($O^{\bullet}$, $O_2^{\bullet-}$, $HO^{\bullet}$) ou encore des peroxydes (R-O-O-R) qui réagissent sur les composés présents. Les résidus organiques dissous sont donc à la fois activateurs et protecteurs (Richard et al., 2005). Ainsi, la présence de substances humiques dans l'eau accélère la photodégradation de la fluoxétine (Kwon et al., 2006) et ralentit celle de la paroxétine (Kwon et al., 2004). Des études ont montré que certains composés comme le diclofénac (Buser et al., 1998; Kim et al., 2009), le kétoprofène (Kim et al., 2009), la paroxétine (Kwon et al., 2004) ou encore le lorazépam (Calisto et al., 2011) sont facilement photodégradables. Les mêmes études concluent que la photodégradation est difficile pour l'oxazépam, le diazépam (Calisto et al., 2011) voire négligeable pour le naproxène (Kim et al., 2009). La photolyse a également des effets très limités sur la carbamazépine, la fluoxétine et l'alprazolam qui sont considérés comme stables (Andreozzi et al., 2003; Calisto et al., 2011; Kwon et al., 2006; Petrovic et al., 2007). Cependant, même limités, ces phénomènes ne doivent pas être négligés. Par exemple, la carbamazépine qui présente une demi-vie hivernale d'une centaine de jours n'est dégradée que partiellement. Or, il se trouve que cette dégradation même limitée a son importance car elle conduit à la formation d'acridine, composé toxique,

mutagène et carcinogène (Andreozzi et al., 2003; Chiron et al., 2006). Des propriétés mutagènes et génotoxiques ont également été signalées pour les produits de photodégradation du naproxène qui s'avèrent être plus toxiques que le composé parent (Isidori et al., 2005).

La photodégradation est donc un des mécanismes permettant la compréhension du devenir des substances pharmaceutiques dans l'environnement, elle induit de fait la formation de produits de transformation dont les propriétés biologiques et la persistance dans le milieu sont le plus souvent inconnues. Les FIGURE 1.10, FIGURE 1.11 et FIGURE 1.12 apportent une illustration de la complexité des phénomènes mis en jeu en présentant certains produits issus de la photolyse de benzodiazépines, de la carbamazépine, et d'inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine.

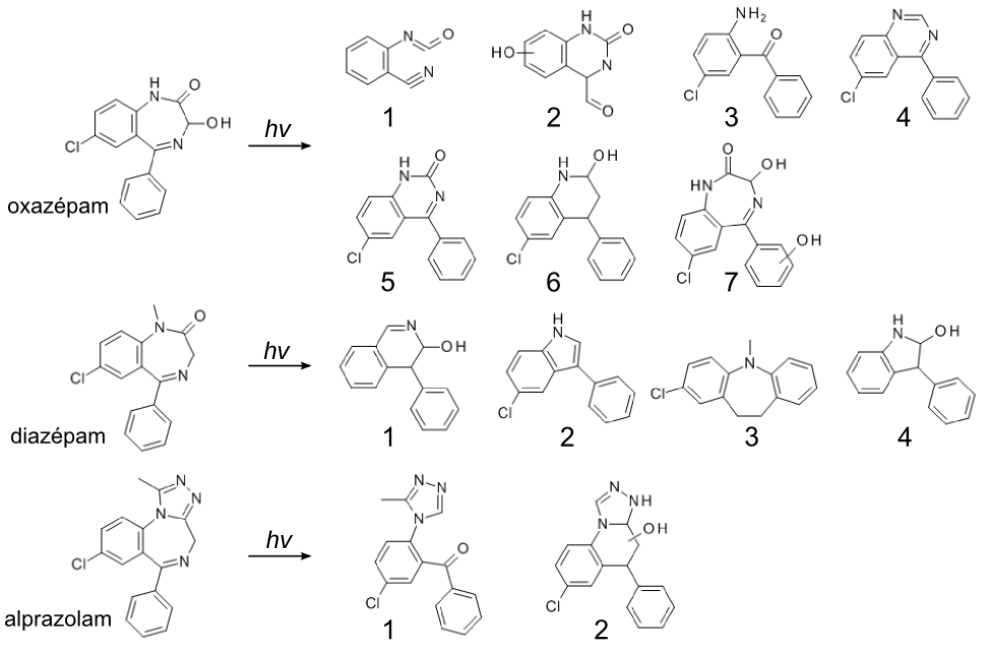


FIGURE 1.10 - Produits de photodégradation de trois benzodiazépines d'après (Calisto et al., 2011)

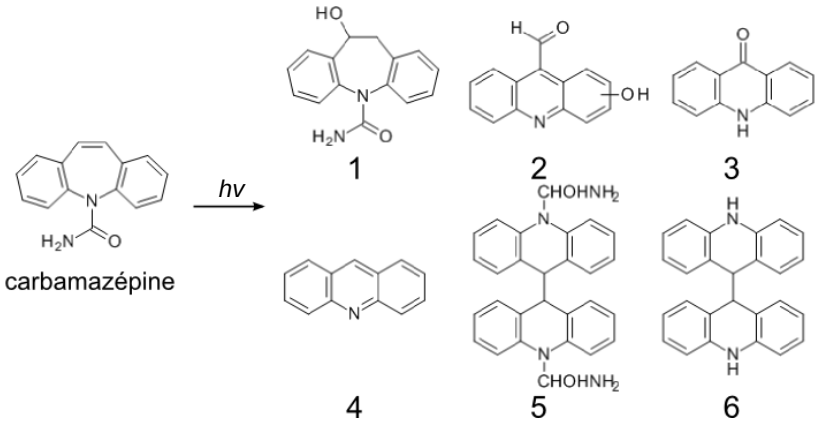


FIGURE 1.11 – Produits de la photolyse directe de la carbamazépine d'après (Chiron et al., 2006).

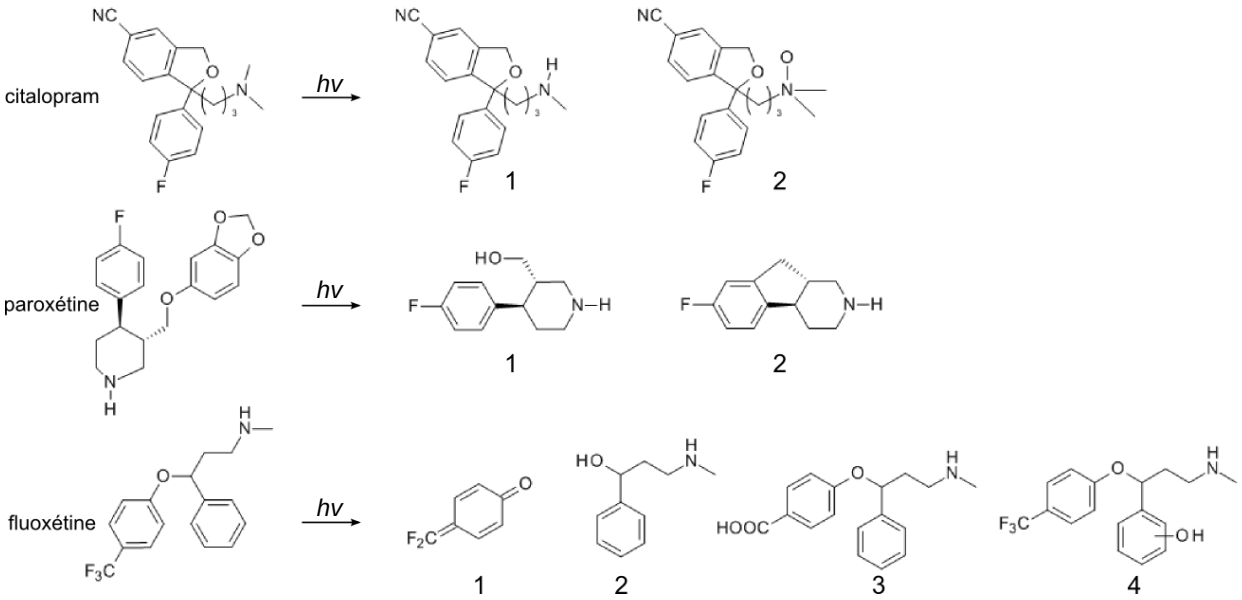


FIGURE 1.12 – Produits de photodégradation trois ISRS d'après (Kwon et al., 2004, 2005; Petrovic et al., 2007)

6.2. Compartiment biotique

Dans les environnements aquatiques impactés, la présence de molécules potentiellement bioactives pose la question de leur devenir au sein des biotas exposés sous réserve qu'elles soient également biodisponibles.

6.2.1. La biodégradation

Les mécanismes de biodégradation dans l'environnement sont les mêmes que ceux mis en jeu lors du traitement sur boues activées (voir partie 5.1 et ANNEXE 1.2). Des microorganismes consomment les produits organiques, en l'occurrence des médicaments et leurs résidus, et s'en servent comme source d'énergie pour se développer (Kümmerer, 2008). La dégradation bactérienne peut conduire à une transformation totale ou partielle. Par exemple, le diazépam est biodégradé partiellement en oxazépam, témazépam, nordazépam et deux autres produits (Kosjek et al., 2012). Ainsi les produits formés peuvent à leur tour être stables ou biodégradables, actifs ou non actifs. Cela multiplie le nombre de molécules présentes dans le milieu.

6.2.2. La bioaccumulation

Le potentiel bioaccumulatif des médicaments et de leurs résidus est très peu renseigné (Fent et al., 2006). En théorie, il est concevable qu'un composé stable dans les eaux de surface puisse s'accumuler dans les organismes exposés. En 2005, Brooks *et al.* en apportent la preuve en analysant les tissus (foie, cerveau et muscles) de trois espèces de poissons vivant à Pecan Creek, Texas. Ce cours d'eau est directement impacté par des rejets de station d'épuration[3]. Les trois espèces étudiées,

[3] Les auteurs précisent même qu'en été, l'eau de Pecan Creek est constituée exclusivement d'effluent de la station d'épuration adjacente.

le crapet arlequin *(Lepomis macrochirus)*, le poisson chat *(Ictalurus punctatus)* et la marigane noire *(Pomoxis nigromaculatus)*, avaient accumulé de la fluoxétine et de la sertraline ainsi que de la norfluoxétine et de la norsertraline. Si les niveaux de concentration étaient plus importants dans le cerveau et dans le foie, de faibles quantités ont été quantifiées dans le muscle (Brooks et al., 2005). De plus, en 2006, une étude pilote sur cinq rivières impactées par des rejets de station d'épuration a été conduite à travers les Etats-Unis. Les analyses des tissus des poissons pêchés dans ces environnements ont révélé la présence de carbamazépine, fluoxétine, norfluoxétine et sertraline. Des concentrations de 3,1 et 8 ng/g de carbamazépine ont été mesurées dans le filet et le foie de perches truitées *(Micropterus salmoides)*. La fluoxétine, la norfluoxétine et la sertraline ont été quantifiées dans le foie de meuniers noirs *(Catostomus commersoni)* à des niveaux allant jusqu'à 80, 48 et 545 ng/g respectivement. Les muscles de ces poissons contenaient quant à eux jusqu'à 5 ng/g de norfluoxétine et 19 ng/g de sertraline (Ramirez et al., 2009). Dans ce domaine, les informations disponibles sur les substances illicites sont plus rares. Cela n'exclut pas pour autant toute capacité bioaccumulative : après une exposition prolongée à 20ng/L pendant 1 mois, de la cocaïne a été trouvée dans les tissus de l'anguille *(Anguilla anguilla)* (Capaldo et al., 2012). Enfin, tout comme pour les phénomènes cités dans les paragraphes précédents, les conditions du milieu, et notamment le pH, peuvent avoir une influence considérable. Par exemple, pour des valeurs pH de 7, 8 et 9, les facteurs de bioaccumulation de la fluoxétine chez le médaka *(Oryzias latipes)* varient respectivement de 13 à 37 et 330 (Nakamura et al., 2008).

6.2.3. La métabolisation

La question de la métabolisation trouve sa place comme une conséquence logique à la biodisponibilité et la bioaccumulation de certaines molécules. En effet, comme tous les organismes vivants, les biotas aquatiques possèdent un système métabolique. Les travaux de Brooks *et al.* et de Ramirez *et al.* précédemment cités, indiquent une présence plus importante de polluants dans le foie des espèces étudiées que dans leurs muscles. Les quantités bioaccumulées sont donc inférieures aux quantités ingérées, cela suggère une cinétique d'accumulation lente. En outre, le foie étant un organe majeur dans le cycle de biotransformation des xénobiotiques, une partie de la norfluoxétine et de la norsertaline quantifiée pourrait être issue de transformations d'origine endogène. Toutefois le cadre de ces travaux ne permet pas de discuter d'avantage cette éventualité sans études pharmacocinétiques plus poussées. La capacité métabolique des organismes aquatiques est par ailleurs avérée : le poisson *O. mykiss* métabolise exemple la morphine en morphine-3-β-glucuronide (Newby et al., 2008).

6.3. Données d'occurrence dans les eaux de surface

Suite à leur consommation, métabolisation, traitement d'épuration et dégradation dans le milieu naturel, certains médicaments peuvent toujours être présents dans les eaux de surface, en mélange avec leurs résidus.

Les TABLEAU 1.10 et TABLEAU 1.11 rassemblent des données d'occurrence dans le milieu aquatique, en France et à l'étranger. Les concentrations reportées dans ces tables sont les concentrations maximales mesurées pour l'étude citée. Ces données révèlent d'une part l'omniprésence de ces composés dans l'environnement. D'autre part, à quelques exceptions près, les métabolites et les produits de transformation ne sont pas souvent caractérisés dans les eaux de surfaces bien qu'ils

puissent parfois représenter un risque environnemental plus important que le composé parent (Boxall et al., 2004). Sur les 216 valeurs rapportées, seulement 15 sont celles de métabolites dont 7 pour la seule benzoylecgonine. En France, la carbamazépine, l'ibuprofène, l'oxazépam et le paracétamol ont été mesurés dans les eaux de surface à des concentrations de l'ordre de plusieurs dizaines à plusieurs centaines de ng/L. Ces composés sont d'ailleurs bien documentés. Le diclofénac, le naproxène et le kétoprofène, également très étudiés, ont été quantifiés dans des niveaux de concentrations inférieurs : de l'ordre de la dizaine de ng/L. Le bromazépam se situe également dans cet ordre de grandeur. Enfin, les autres composés (diazépam, doxépine, fluoxétine, lorazépam, zolpidem) sont présents dans les eaux de surfaces dans des teneurs avoisinant le ng/L. A l'étranger les niveaux de concentrations maximales rapportés sont plus élevés que dans l'hexagone. L'acétaminophène, la carbamazépine, l'ibuprofène, le naproxène, le diclofénac et le kétoprofène y sont également les composés les plus fréquemment étudiés. D'ailleurs, avec le tramadol ils ont tous été caractérisés dans l'environnement à des hauts niveaux de concentration de l'ordre de plusieurs centaines jusqu'aux milliers de ng/L De nombreuses autres molécules ont également été quantifiées à des niveaux plus faibles mais toujours importants (de l'ordre de la centaine de ng/L). Il s'agit de la benzoylecgonine, le citalopram, la cocaïne, la codéine, la gabapentine, la doxépine, l'oxazépam et la venfaxine. Les autres, et notamment les antidépresseurs inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine et leurs métabolites sont rapportés à des concentrations comprises entre le ng et la dizaine de ng/L.

Les substances pharmaceutiques sont ubiquistes dans l'environnement et leurs niveaux de concentration varient typiquement entre le ng/L jusqu'à la centaine de ng/L. L'amplitude de ces valeurs peut d'ailleurs s'étendre sur plusieurs ordres de magnitude, y compris pour un même composé. Cela pose le problème de la représentativité spatio-temporelle. Tout d'abord, les habitudes de prescription et les niveaux de consommation sont fortement liés à la zone géographique étudiée et à sa démographie. Ensuite l'impact des stations d'épuration est extrêmement variable pour des raisons liées au traitement (type de traitement, temps de résidence hydraulique, saison etc.…), aux quantités d'eau charriées qui vont plus ou moins diluer la pollution et enfin au lieu de prélèvement. Trivialement, une mesure n'aura pas la même valeur si elle est prise en amont, en aval ou encore à différentes distances de la station d'épuration. L'étude de Schultz *et al.* sur les sites de Boulder et Fourmile Creek au Etats-Unis l'illustre parfaitement. Aucun des composés analysés n'a pu être quantifié (LOQ=0,5 ng/L) en amont de la station d'épuration, les concentrations maximales ont été relevées au niveau de la sortie de la station et une diminution des concentrations a été observée pour les prélèvements effectués à environ 3 et 8 km en aval (Schultz et al., 2010). Enfin, de nombreux autres facteurs environnementaux comme la nature et la quantité des sédiments, l'ensoleillement, la présence de matière organique dissoute ou encore le pH sont susceptibles d'influer la concentration des micropolluants en phase aqueuse en favorisant leur dégradation, leur sorption ou leur bioaccumulation. La présence de substances humiques, par exemple, facilite la photodégradation de la fluoxétine qui voit son temps de demi-vie divisé par plus de trois (Kwon et al., 2006). Dans ces conditions, celui de la carbamazépine est multiplié par quatre et diminue de moitié en présence de nitrates (Andreozzi et al., 2003). Le pH est également une grandeur capitale car il peut induire des changements importants sur le devenir des molécules dont les comportements d'adsorption (voir partie 6.1.1) et d'accumulation peuvent être modifiés.

molécule	$C_{max.}$ ($ng.L^{-1}$)	lieu (rivière, mer, estuaire) (*réf.*)	
alprazolam	20	Loire (riv)	(Togola et al., 2008b)
bromazépam	134	Vienne (riv)	(Togola et al., 2008b)
	54	Clain (riv)	(Togola et al., 2008b)
	14	Loire (riv)	(Togola et al., 2008b)
carbamazépine	56	Hérault (riv)	(Togola et al., 2008a)
	61	Allier (riv)	(Togola et al., 2008b)
	6	Loire (riv)	(Togola et al., 2008b)
	89	Vienne (riv)	(Togola et al., 2008b)
	73	Clain (riv)	(Togola et al., 2008b)
	50	Loire (riv)	(Togola et al., 2008b)
	233	Moine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	703	Vilaine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	13	Gironde (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	228	Loire (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	8	Adour (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	164	Seine (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
diazépam	5	Loire (riv)	(Togola et al., 2008b)
	1	Cortiou (mer)	(Lardy-Fontan, 2008)
diclofénac	33	Hérault (riv)	(Togola et al., 2008a)
	10	Allier (riv)	(Togola et al., 2008b)
	11	Vienne (riv)	(Togola et al., 2008b)
	13	Clain (riv)	(Togola et al., 2008b)
	14	Moine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	56	Vilaine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	14	Moine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	106	Cortiou (mer)	(Lardy-Fontan, 2008)
	4	Gironde (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	6	Loire (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	23	Adour (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	380	Seine (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
doxépine	1	Cortiou (mer)	(Lardy-Fontan, 2008)
fluoxétine	4	Vilaine (riv)	(Togola et al., 2008b)
ibuprofène	5	Hérault (riv)	(Togola et al., 2008a)
	64	Vienne (riv)	(Togola et al., 2008b)
	5	Clain (riv)	(Togola et al., 2008b)
ibuprofène	10	Moine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	6	Vilaine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	433	Cortiou (mer)	(Lardy-Fontan, 2008)
	3	Gironde (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	9	Loire (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	37	Adour (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	610	Seine (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
kétoprofène	28	Vilaine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	461	Cortiou (mer)	(Lardy-Fontan, 2008)
	3	Hérault (riv)	(Togola et al., 2008a)
	24	Gironde (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	9	Loire (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	3	Adour (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	78	Seine (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
lorazépam	15	Moine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	13	Vilaine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	7	Clain (riv)	(Togola et al., 2008b)
naproxène	24	Vilaine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	132	Cortiou (mer)	(Lardy-Fontan, 2008)
	9.1	Hérault (riv)	(Togola et al., 2008a)
	7	Gironde (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	8	Loire (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	6	Adour (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
	185	Seine (estu)	(Lardy-Fontan, 2008)
nordiazépam	2	Hérault (riv)	(Togola et al., 2008a)
	2	Cortiou (mer)	(Lardy-Fontan, 2008)
oxazépam	100	Allier (riv)	(Togola et al., 2008b)
	142	Vienne (riv)	(Togola et al., 2008b)
	122	Clain (riv)	(Togola et al., 2008b)
	42	Loire (riv)	(Togola et al., 2008b)
	235	Moine (riv)	(Togola et al., 2008b)
	813	Vilaine (riv)	(Togola et al., 2008b)
paracétamol	72	Hérault (riv)	(Togola et al., 2008a)
	541	Cortiou (mer)	(Lardy-Fontan, 2008)
zolpidem	4	Vilaine (riv)	(Togola et al., 2008b)

TABLEAU 1.10 – Données d'occurrence pour une liste de substances psychotropes, acétaminophène et AINS dans les eaux de surface françaises (concentrations maximales exprimées en ng/L, arrondies à l'unité).

Ces données confirment l'ubiquité des molécules psychotropes dans les milieux aquatiques pour une large gamme de concentration. Aussi, leur présence dans les eaux de surface interroge quant à leur(s) impact(s) sur les organismes non-cibles. En effet ces composés, potentiellement biodisponibles, ont été conçus pour induire des effets biologiques.

molécule	$C_{max.}$ (ng.L^{-1})	lieu : Rivière, Pays (*réf.*)	
acétaminophène	388	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	925	Leça, Portugal	(NORMAN)
	7	Danube, Roumanie	(NORMAN)
	143	Ebro, Espagne	(Gros et al., 2010)
	10 000	Etats-Unis	(Kolpin et al., 2002)
	1 388	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007)
	58	Warta, Pologne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007)
	1 379	Ely, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
amphétamine	6	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	9	Taff, Grande Bretagne	(MacLeod et al., 2007a)
	21	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
benzoylecgonine	92	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	520	Belgique	(van Nuijs et al., 2009a)
	183	Olona, Italie	(Zuccato et al., 2008)
	111	Llobregat, Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2007)
	326	Ebro, Espagne	(Postigo et al., 2010)
	123	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	11	Suisse	(Berset et al., 2010)
carbamazépine	149	Danube, Austriche	(NORMAN)
	44	Danube, Bulgarie	(NORMAN)
	58	Danube, Croatie	(NORMAN)
	206	Danube, Rép. Tchèque	(NORMAN)
	45	Danube, Allemagne	(NORMAN)
	401	Danube, Hongrie	(NORMAN)
	632	Pô, Italie	(NORMAN)
	945	Danube, Roumanie	(NORMAN)
	42	Danube, Serbie	(NORMAN)
	7 600	Váh, Slovaquie	(NORMAN)
	180	Ebro, Espagne	(NORMAN)
	371	Rhin, Suisse	(Ort et al., 2009)
	794	Warta, Pologne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007)
	9	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007)
	684	Ely, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	81	Rhin, Allemagne	(Hummel et al., 2006)
	251	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
citalopram	36	Etats-Unis	(Schultz et al., 2008)
	12*	Saint Laurent, Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
	205*	Boulder Ck, Etats-Unis	(Schultz et al., 2010)

molécule	$C_{max.}$ (ng.L^{-1})	lieu : Rivière, Pays (*réf.*)	
fluoxétine	1*	Saint Laurent, Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
	11	Etats-Unis	(Schultz et al., 2008)
	410	Ebro, Espagne	(Gros et al., 2010)
	43*	Boulder Ck, Etats-Unis	(Schultz et al., 2010)
gabapentine	1 879	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	98	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007)
	75	Warta, Pologne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007)
	1 887	Ely, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
ibuprofène	10	Danube, Autriche	(NORMAN)
	57	Morava, Rép. Tchèque	(NORMAN)
	15	Danube, Allemagne	(NORMAN)
	500	Pô, Italie	(NORMAN)
	79	Lambro, Italie	(Calamari et al., 2003)
	530	Ebro, Espagne	(NORMAN)
	718	Danube, Roumanie	(NORMAN)
	87	Danube, Serbie	(NORMAN)
	8 600	Morava, Slovaquie	(NORMAN)
	92	Lambro, Italie	(Zuccato et al., 2000)
	530	Allemagne	(Ternes, 1998)
	29	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	100	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
kétoprofène	1 000	Pô, Italie	(NORMAN)
	214	Danube, Roumanie	(NORMAN)
	31	Danube, Serbie	(NORMAN)
	89	Sava, Slovénie	(Kosjek et al., 2005)
	290	Ebro, Espagne	(NORMAN)
	120	Allemagne	(Ternes, 1998)
	3	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	14	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
lorazépam	21	Leça, Portugal	(NORMAN)
	84	Ebro, Espagne	(Gros et al., 2010)
MDMA	6	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	4	Llobregat, Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2007)
	12	Ebro, Espagne	(Postigo et al., 2010)
	2	Olona, Italie	(Zuccato et al., 2008)
méthadone	11	Arno, Italie	(Zuccato et al., 2008)
	5	Suisse	(Berset et al., 2010)

TABLEAU 1.11 – Occurrence des substances psychotropes, acétaminophène et AINS dans les eaux de surface à l'étranger (concentrations maximales exprimées en ng/L, arrondies à l'unité)

molécule	$C_{max.}$ (ng.L^{-1})	lieu : Rivière, Pays (*réf.*)	
cocaïne	2	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	115	Belgique	(van Nuijs et al., 2009a)
	44	Olona, Italie	(Zuccato et al., 2008)
	10	Llobregat, Espagne	(Huerta-Fontela et al., 2007)
	59	Ebro, Espagne	(Postigo et al., 2010)
	4	Suisse	(Berset et al., 2010)
codéine	51	Olona, Italie	(Zuccato et al., 2008)
	213	Ebro, Espagne	(Gros et al., 2010)
	34	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007)
	15	Warta, Pologne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007)
	88	Bieber, Allemagne	(Hummel et al., 2006)
	224	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	815	Ely, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	38	Olona, Italie	(Zuccato et al., 2008)
	11	Ebro, Espagne	(Postigo et al., 2010)
	78	Landgraben, Allemagne	(Hummel et al., 2006)
	18	Suisse	(Berset et al., 2010)
desméthylVLX[a]	69*	Saint Laurent, Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
diazépam	1	Lambro, Italie	(Zuccato et al., 2000)
	33	Allemagne	(Ternes et al., 2001)
	4	Ebro, Espagne	(Gros et al., 2010)
diclofénac	8	Danube, Autriche	(NORMAN)
	3	Morava, Rép. Tchèque	(NORMAN)
	7	Danube, Allemange	(NORMAN)
	850	Pô, Italie	(NORMAN)
	57	Leça, Portugal	(NORMAN)
	120	Ebro, Espagne	(Gros et al., 2010)
	641	Rhin, Suisse	(Ort et al., 2009)
	490	Sava, Slovénie	(Kosjek et al., 2005)
	1 200	Allemagne	(Ternes, 1998)
	28	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	261	Ely, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
doxépine	220	Rodau, Allemagne	(Hummel et al., 2006)
EDDP[b]	7	Arno, Italie	(Zuccato et al., 2008)
	12	Suisse	(Berset et al., 2010)
morphine	14	Suisse	(Berset et al., 2010)

molécule	$C_{max.}$ (ng.L^{-1})	lieu : Rivière, Pays (*réf.*)	
naproxène	85	Rhin, Suisse	(Ort et al., 2009)
	4	Danube, Autriche	(NORMAN)
	5	Danube, Allemagne	(NORMAN)
	1 918	Pô, Italie	(NORMAN)
	15	Danube, Roumanie	(NORMAN)
	46	Danube, Serbie	(NORMAN)
	3	Danube, Slovaquie	(NORMAN)
	390	Ebro, Espagne	(NORMAN)
	313	Sava, Slovénie	(Kosjek et al., 2005)
	50	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
naproxène	113	Ely, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
norfluoxétine	2	Etats-Unis	(Schultz et al., 2008)
	1*	Saint Laurent, Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
	14*	Boulder Ck, Etats-Unis	(Schultz et al., 2010)
norsertraline	5	Etats-Unis	(Schultz et al., 2008)
	5*	Saint Laurent, Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
	27*	Boulder Ck, Etats-Unis	(Schultz et al., 2010)
oxazépam	398	Erlenbach, Allemagne	(Hummel et al., 2006)
paroxétine	1	Etats-Unis	(Schultz et al., 2008)
	170	Ebro, Espagne	(Gros et al., 2010)
	3*	Saint Laurent, Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
	6*	Boulder Ck, Etats-Unis	(Schultz et al., 2010)
sertraline	5	Etats-Unis	(Schultz et al., 2008)
	2	Saint Laurent, Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
	38*	Fourmile Ck, Etats-Unis	(Schultz et al., 2010)
THC-COOH[c]	1	Arno, Italie	(Zuccato et al., 2008)
tramadol	5 970	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
	252	Taff, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007)
	2 108	Warta, Pologne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2007)
	52	Rhin, Allemagne	(Hummel et al., 2006)
	7 731	Ely, Grande Bretagne	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008b)
venlafaxine	310	Etats-Unis	(Schultz et al., 2008)
	46*	Saint Laurent, Canada	(Lajeunesse et al., 2008)
	690*	Fourmile Ck, Etats-Unis	(Schultz et al., 2010)
zolpidem	3	Leça, Portugal	(NORMAN)

* valeur moyenne ; [a] : O-desmethylvenlafaxine ; [b] ; 2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrrolidine ; [c] : 11-nor-9-carboxy-Δ9-tétrahydrocannabinol

TABLEAU 1.11 – Occurrence des substances psychotropes, acétaminophène et AINS dans les eaux de surface à l'étranger (concentrations maximales exprimées en ng/L, arrondies à l'unité) (suite)

7. Ecotoxicité

Les effets provoqués par l'absorption de substances pharmaceutiques sont bien connus chez l'Homme ou certains organismes modèles dans des cadres définis. En revanche, les incidences d'une exposition prolongée à des niveaux de concentrations environnementales sur les organismes aquatiques semblent ignorées. Dans le but de combler cette lacune, les études d'écotoxicologie évaluent les risques liés à la présence des substances pharmaceutiques dans le milieu. Toutefois, il existe un réel manque d'études écotoxicologiques chroniques ciblées pour les produits pharmaceutiques en général (Fent, 2008; Fent et al., 2006) et pour les psychotropes en particulier ainsi que pour leurs métabolites et produits de transformation. Les données publiées concernent presque exclusivement la carbamazépine et les antidépresseurs inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine (ISRS) (Fent et al., 2006).

7.1. Effets directs

7.1.1. Toxicité aigüe (CE_{50} et DL_{50})

Il existe plusieurs paramètres permettant d'évaluer l'efficacité ou la toxicité d'un composé sur un organisme donné. Les paramètres les plus fréquents sont respectivement la CE_{50} et la DL_{50}. La CE_{50} ou concentration efficace 50 permet de mesurer l'efficacité d'un médicament, elle correspond à la dose entraînant 50% de l'effet maximum de la substance. La DL_{50} ou dose létale 50, quant à elle, définit la dose entraînant la mort de 50% d'une population donnée. La DL_{50} de la fluoxétine chez la truite arc-en-ciel *(Oncorhynchus mykiss)* est de 0,7mg/L. Une DL_{50} de 1 mg/L a été reportée pour la paroxétine chez le crapet arlequin *(Lepomis macrochirus)* et une EC_{50} de 0,58 mg/L chez la puce d'eau *(Ceriodaphnia dubia)* (TABLEAU 1.12). Ces paramètres sont associés à l'administration d'une dose ponctuelle et importante d'une substance active. Les concentrations maximales mesurées en sortie de STEP sont, en général, négligeables par rapport à ces valeurs y compris pour les inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine, qui pourtant présentent des seuils d'efficacité et de toxicité parmi les plus bas. Les données de toxicité aiguë, ne sont donc pas représentatives de la réalité environnementale et ne suffisent pas à l'évaluation complète des risques associés aux contaminants présents dans le milieu aquatique (Fent, 2008; Fent et al., 2006).

7.1.2. Toxicité chronique (LOEC et NOEC)

En reflétant les effets provoqués par une exposition répétée et à faible dose, la toxicité chronique offre une meilleure idée du potentiel écotoxique des contaminants environnementaux dans des conditions plus proches de celles du milieu. La toxicité chronique est évaluée par les coefficients LOEC et NOEC qui sont respectivement la concentration minimale induisant un effet et la concentration maximale pour laquelle aucun effet n'est observé. Ces valeurs varient selon l'effet mesuré, ainsi pour le mené tête-de-boule *(Pimephales promelas)* les NOEC de la fluoxétine peuvent être de 106, 50 ou 9 µg/L selon que l'on considère la survie, le comportement alimentaire ou la croissance (Stanley et al., 2007). Dans certains cas, les NOEC et LOEC peuvent avoir des valeurs proches des valeurs maximales mesurées en sortie de station d'épuration. Cela reste exceptionnel et le LOEC est en général 2 ordres de magnitude en dessous des valeurs environnementales (Fent, 2008). Cette constatation ne doit pas pour

autant exclure tout risque potentiel pour l'écosystème aquatique. D'autant plus qu'une évaluation définitive de ces risques semble irréaliste dans la mesure où chaque espèce est susceptible de répondre différemment. De plus, les médicaments peuvent agir suivant un ou plusieurs modes d'actions, parfois inconnus, selon le niveau taxonomique de l'organisme exposé (Fent et al., 2006).

Aussi, la considération d'effets comme les effets comportementaux ou les phénomènes de perturbation endocrinienne qui ne sont pas des effets toxiques au sens strict du terme, doit également être prise en compte dans les évaluations des risques liés à la présence de résidus médicamenteux dans les milieux et notamment pour les psychotropes. A titre d'illustration, il a été démontré qu'une exposition de *P. promelas* à 0,25 µg/L de fluoxétine ralentit son comportement de fuite (Painter et al., 2009) et une concentration de 0,54 µg/L induit une baisse de volume de sperme chez le poisson rouge *(Carassius auratus)* (Mennigen et al., 2010).

Enfin, la possibilité d'effets délétères sur des organismes non cibles en deçà de ces seuils de toxicité chronique ne peut être totalement écartée sans l'évaluation des effets induits par la présence des composés en mélange.

7.2. Effets mélanges

Les méthodes d'estimation des risques considèrent généralement indépendamment les effets toxiques des produits sur les organismes aquatiques. Cette simplification ne correspond, bien entendu, aucunement à la réalité environnementale. La plupart des substances actives ayant été partiellement ou totalement métabolisées et dégradées, les médicaments et leurs résidus forment un mélange complexe (partie 1.6). Les interactions entre les différentes molécules présentes dans le milieu peuvent être de quatre types : additifs, indépendants, synergiques ou agonistes (Backhaus et al., 2008). Les effets de tels mélanges sont encore peu étudiés, mais quelques publications font état de phénomènes particuliers et espèces dépendantes (Fent, 2008)

Par exemple, l'exposition à un mélange équimolaire à 100 $ng.L^{-1}$ de sept médicaments (acide salicylique, diclofénac, gemfibrozil, ibuprofène, naproxène, paracétamol, triclosan) n'a pas provoqué de changement notable sur trois générations de hyaelles mexicaines *(Hyalella azteca)* si ce n'est une légère augmentation de la proportion de mâles au sein de la population (Borgmann et al., 2007). Au contraire, l'association acide clofibrique et fluoxétine entraine l'augmentation de la mortalité et des malformations au sein d'une population de puces d'eau douce *(Daphnia magna)* alors qu'aucune toxicité apparente n'est reportée lors d'une exposition individuelle à chacune de ces molécules (Flaherty et al., 2005). Une autre étude indique que le mélange acide clofibrique-carbamazépine chez *D. magna* suit le principe d'additivité tandis qu'aucun effet accumulatif n'est observé sur l'algue *Desmodesmus subspicatus* (Cleuvers, 2003). L'association ibuprofène-diclofénac induit sur cette algue un effet additif alors qu'une synergie a été constatée chez *D. magna* (Cleuvers, 2004). Enfin, l'hypothèse d'addition des concentrations a également été vérifiée pour des mélanges binaires d'ISRS (fluoxétine, sertraline, citalopram et paroxétine) sur *D. magna* (Christensen et al., 2007; Henry et al., 2007) et l'algue verte *Pseudokirchneriella subcapitata* (Christensen et al., 2007).

Cela implique que des composés bien qu'en concentration inférieure à leur LOEC ou NOEC peuvent contribuer à la toxicité d'un mélange. Cette toxicité peut être

imprévisible et complexe. C'est la raison pour laquelle il est important d'inclure ces effets potentiels dans une démarche d'évaluation de risques.

7.3. Données d'écotoxicologie : limites et perspectives

Comme il l'a été souligné précédemment, la seule lecture des seuils de toxicité létale, d'efficacité ou de toxicité chronique ne suffit pas à une évaluation des risques liés à la présence de composés psychotropes dans l'environnement. D'autant plus que les tests standardisés effectués dans les études d'écotoxicologie sont, par essence, spécifiques à une espèce donnée (Brooks et al., 2003a). Ainsi, les réponses obtenues ne sont pas forcément les plus sensibles et les espèces modèles utilisées ne peuvent pas garantir la protection de l'ensemble des organismes d'un écosystème aquatique (La Point et al., 2000).

La définition de l'impact d'une substance au niveau d'un écosystème est d'ailleurs un enjeu important car des interactions peuvent survenir entre les différents niveaux trophiques. En 2004, Richards *et al.* ont publié les résultats d'une expérience de 35 jours sur l'impact d'un mélange de médicaments sur un microcosme aquatique. Le mélange en question comprend un AINS, un antibiotique, et un ISRS : l'ibuprofène, la ciprofloxacine et la fluoxétine. Grâce à une analyse multivariée, les auteurs ont rapporté l'existence d'interactions entre zooplanctons et phytoplanctons. Leurs populations ont augmenté en abondance et diminué en diversité pour une concentration de 60, 100 et 100 µg/L (ibuprofène, ciprofloxacine, fluoxétine). Dans les mêmes conditions, la croissance des lentilles d'eau *Lemna gibba* a été réduite. De plus, près de la moitié des poissons (*Lepomis gibbosus*) sont morts alors que les doses administrées sont 10 à 230 fois inférieures aux seuils thérapeutiques rapportés au modèle mammifère (Richards et al., 2004). Toutefois, les niveaux de contamination utilisés lors de cette étude sont bien plus élevés que les concentrations rapportées dans l'environnement. Cela permet quant même de souligner l'intérêt d'études d'impacts à différents niveaux biologiques qu'il serait pertinent de mener à concentration environnementale (Daughton et al., 1999) et sur des durées suffisamment longues pour englober toutes les étapes sensibles du développement des différents organismes (Brooks et al., 2003a). La durée d'exposition est d'ailleurs un paramètre clé dans la détermination des seuils de toxicité aquatique (Flaherty et al., 2005). Par exemple, le comportement de fuite du poisson *P. promelas* est affecté par une concentration de 0,5 ou de 5 µg/L de venlafaxine selon que l'exposition s'est produite à la phase embryonnaire ou larvaire (Painter et al., 2009). Il est donc nécessaire d'évaluer de façon plus définitive les risques posés par les composés parents, les métabolites, et les produits de transformation sur les écosystèmes aquatiques de façon continue, générations après générations. Approcher les conditions du milieu est un enjeu majeur qui implique de considérer également les interactions possibles entre toxicologie et devenir environnemental (Brooks et al., 2009). Les conditions pH peuvent par exemple se révéler critiques : le comportement alimentaire de *P. promelas* est modifié (EC_{10}) par la sertraline à des concentrations variant de 8,7 µg/L à pH 8,5 jusqu'à 65,6 et 69,6 µg/L à pH 7,5 et 6,5 (Valenti et al., 2009).

molécule	algues				invertébrés et crustacés				poissons			
	espèce	C (mg/L)		[*réf.*]	espèce	C (mg/L)		[*réf.*]	espèce	C (mg/L)		[*réf.*]
carbamazépine	*Pseudokirchneriella subcapitata*	NOEC	0,521	[1]	*Ceriodaphnia dubia*	NOEC	0,025	[9]	*Oncorhynchus mykiss*	LOEC	0,2	[19]
	Cyclotella meneghiniana	NOEC	10	[2]	*Brachionus calyciflorus*	NOEC	0,377	[9]	*Danio rerio*	NOEC	25	[9]
	Desmodesmus subspicatus	CE_{50}	74	[2]	*Gammarus pulex*	LOEC	0,01	[10]				
citalopram	*Pseudokirchneriella subcapitata*	CE_{50}	1,6	[3]	*Ceriodaphnia dubia*	NOEC	0,80	[11]				
					Ceriodaphnia dubia	DL_{50}	3,9	[11]				
diazépam	*Desmodesmus subspicatus*	NOEC	2,56	[4]	*Hydra vulgaris*	NOEC	0,01	[12]	*Danio rerio*	NOEC	0,273	[4]
					Daphnia magna	NOEC	0,8	[4]	*Danio rerio*	LOEC	0,273	[20]
					Chironomus tentans	NOEC	1	[4]	*G. Holbrooki*	LEOC	12,7	[21]
					Daphnia magna	CE_{50}	4,3	[4]				
					Daphnia magna	CE_{50}	14,1	[4]				
diclofénac	*Scenedesmus vacuolatus*	NOEC	0,023	[5]	*Ceriodaphnia dubia*	NOEC	1	[9]	*Oncorhynchus mykiss*		0,001	[22]
	Cyclotella meneghiniana	NOEC	10	[2]	*Brachionus calyciflorus*	NOEC	12,5	[2]	*Oncorhynchus mykiss*		0,005	[23]
	Desmodesmus subspicatus	CE_{50}	72	[2]					*Danio rerio*		4	[9]
fluoxétine	*Pseudokirchneriella subcapitata*	LOEC	0,014	[6]	*Daphnia magna*	LOEC	0,0001	[13]	*Pimephales promelas*	LOEC	0,000025	[24]
	Pseudokirchneriella subcapitata	CE_{50}	0,024	[7]	*Daphnia magna*	LOEC	0,036	[14]	*Carassius auratus*	LOEC	0,00054	[25]
	Pseudokirchneriella subcapitata	CE_{50}	0,027	[3]	*Ceriodaphnia dubia*	NOEC	0,056	[6]	*Oryzias latipes*	NOEC	0,0001	[26]
					Ceriodaphnia dubia	NOEC	0,089	[11]	*Pimephales promelas*	NOEC	0,009	[27]
					Gammarus pulex	NOEC	0,1	[10]	*Cyprinodon variegatus*	LOEC	0,03	[28]
					Ceriodaphnia dubia	DL_{50}	0,234	[7]	*Pimephales promelas*	LOEC	0,053	[27]
					Ceriodaphnia dubia	LOEC	0,447	[11]	*Oncorhynchus mykiss*	DL_{50}	0,7	[29]
					Ceriodaphnia dubia	DL_{50}	0,51	[11]	*Lepomis macrochirus*	DL_{50}	1	[29]
					Potamopyrgus antipodarum	NOEC	0,00047	[15]	*Xenopus laevis*	NOEC	2	[30]
ibuprofène	*Pseudokirchneriella subcapitata*	NOEC	0,52	[1]	*Hydra vulgaris*	NOEC	>0,01	[2]	*Oryzias latipes*	NOEC	0,001	[31]
	Pseudokirchneriella subcapitata	CE_{50}	2,3	[1]	*Gammarus pulex*	NOEC	0,01	[10]				
					Hydra vulgaris	NOEC	0,01	[12]				
					Hydra attenuata	NOEC	5	[16]				
miansérine									*Danio rerio*	NOEC	0,25	[32]

TABLEAU 1.12 – Données de toxicité aiguë et chronique pour une liste de substances psychotropes, paracétamol et AINS reportée dans la littérature

molécule	algues				invertébrés et crustacés				poissons			
	espèce	C (mg/L)		[*réf.*]	espèce	C (mg/L)		[*réf.*]	espèce	C (mg/L)		[*réf.*]
morphine					*E. Complanata*	LOEC	8,85	[17]				
naproxène	*Pseudokirchneriella subcapitata*	NOEC	0,52	[1]	*Ceriodaphnia dubia*	CE_{50}	0,33	[18]				
	Pseudokirchneriella subcapitata	CE_{50}	3,7	[1]	*Brachionus calyciflorus*	CE_{50}	0,56	[18]				
					H. Attenuata	LOEC	10	[16]				
paracétamol					*Hydra vulgaris*	NOEC	>0,01	[2]				
paroxétine	*Pseudokirchneriella subcapitata*	CE_{50}	0,14	[3]	*Ceriodaphnia dubia*	NOEC	0,022	[11]	*Lepomis macrochirus*	DL_{50}	1	[29]
					Ceriodaphnia dubia	LOEC	0,044	[11]	*Xenopus laevis*	NOEC	2	[30]
					Ceriodaphnia dubia	DL_{50}	0,58	[11]				
sertraline	*Pseudokirchneriella subcapitata*	CE_{50}	0,043	[3]	*Ceriodaphnia dubia*	NOEC	0,009	[11]	*Oncorhynchus mykiss*	NOEC	0,1	[8]
	Pseudokirchneriella subcapitata	NOEC	0,05	[8]	*Daphnia magna*	NOEC	0,032	[8]	*Oncorhynchus mykiss*	DL_{50}	0,38	[8]
	Pseudokirchneriella subcapitata	LOEC	0,075	[8]	*Ceriodaphnia dubia*	LOEC	0,045	[11]	*Xenopus laevis*	NOEC	1	[30]
	Pseudokirchneriella subcapitata	CE_{50}	0,14	[8]	*Ceriodaphnia dubia*	DL_{50}	0,12	[11]	*Pimephales promelas*	CE_{10}	0,0087	[33]
					Daphnia magna	CE_{50}	0,92	[3]	*Pimephales promelas*	LOEC	0,015	[33]
					Daphnia magna	DL_{50}	1,12	[8]	*Pimephales promelas*	CE_{50}	0,083	[33]
venlafaxine									*Pimephales promelas*	LOEC	0,0005	[24]

[1] : (Harada et al., 2008) ; [2] : (Crane et al., 2006) cités par (Lardy-Fontan, 2008) ; [3] : (Christensen et al., 2007) ; [4] : (Straub et al., 2008) ;
[5] : (Schmitt-Jansen et al., 2007) ; [6] : (Brooks et al., 2003b) ; [7] : (Brooks et al., 2003c) ; [8] : (Minagh et al., 2009) ; [9] : (Ferrari et al., 2003) ;
[10] : (De Lange et al., 2006) ; [11] : (Henry et al., 2004) ; [12] : (Pascoe et al., 2003) ; [13] : (Richards et al., 2008) ; [14] : (Flaherty et al., 2005) ; [15] : (Nentwig, 2007) ;
[16] : (Quinn et al., 2008) ; [17] : (Gagné et al., 2006) ; [18] : (Isidori et al., 2005) ; [19] : (Li et al., 2009) ; [20] : (Oggier et al., 2010) ; [21] : (Nunes et al., 2008) ;
[22] : (Triebskorn et al., 2004) ; [23]: (Schwaiger et al., 2004) ; [24] : (Painter et al., 2009) ; [25] : (Mennigen et al., 2010) ; [26] : (Foran et al., 2004) ;
[27] : (Stanley et al., 2007) ; [28] : (Winder et al., 2009) ; [29]: (Besse et al., 2008) ; [30] : (Richards et al., 2006) ; [31] : (Flippin et al., 2007) ;
[32] : (van der Ven et al., 2006) ; [33] : (Valenti et al., 2009)

TABLEAU 1.12 – Données de toxicité aiguë et chronique pour une liste de substances psychotropes, paracétamol et AINS reportée dans la littérature (suite)

8. Bilan et sélection d'une liste de composés d'intérêt

8.1. Récapitulatif des critères de sélection

Le TABLEAU 1.13 présente une synthèse des informations prises en compte pour la démarche de sélection d'une liste de molécules psychotropes d'intérêt. Les paramètres de sélection prennent en considération les principaux paramètres influents dans le cycle biogéochimique de ces molécules dans l'environnement. A chacun de ces paramètres est attribué un ordre de grandeur ou d'importance (auquel est associé un code couleur : rouge > orange > jaune). Celui-ci est basé sur les éléments bibliographiques cités dans les différentes parties développées dans ce chapitre :

- Consommation : les ordres de grandeur associés à chaque composé commencent à la dizaine et à la centaine de kilogrammes annuels pour les composés les moins consommés, jusqu'à à la dizaine de milliers de kilogrammes annuels et plus pour les composés dont la consommation est importante. La classification selon ces ordres de grandeur, n'était pas possible pour l'ensemble des molécules, comme pour les substances illicites par exemple. Dans ce cas, l'estimation de la consommation est qualitative. L'ensemble des études bibliographiques étudiées relatives aux données de consommation sont citées dans la partie 3 de ce chapitre.

- Métabolisation : les taux d'excrétion urinaire pour chacun des composés ont permis de distinguer 3 profils différents. Les molécules pour lesquelles l'excrétion sous la forme libre et conjuguée est supérieure à 70%, celles pour lesquelles elle est comprise entre 70 et 30% et les dernières pour lesquelles elle est inférieure à 30%. L'ensemble des études bibliographiques étudiées relatives aux données de métabolisation sont citées dans la partie 4 de ce chapitre.

- Abattement dans les stations d'épuration : les taux d'abattement lors du traitement d'épuration ont permis de distinguer 3 profils différents. Les molécules pour lesquelles l'abattement est inférieur à 30%, celles pour lesquelles l'abattement est compris entre 30 et 70% et les dernières pour lesquelles l'abattement est supérieur à 70%. L'ensemble des études bibliographiques étudiées relatives aux données d'abattement dans les stations d'épuration sont citées dans la partie 5.3 de ce chapitre.

- Occurrence dans les stations d'épuration : les composés mesurés dans les effluents de stations d'épuration ont été hiérarchisés selon leurs niveaux de concentration : de l'ordre du µg/L et supérieur, de l'ordre de la centaine de ng/L et enfin de l'ordre de la dizaine à la centaine de ng/L. L'ensemble des études bibliographiques étudiées relatives aux données d'occurrences dans les effluents de stations d'épuration est cité dans la partie 5.4 de ce chapitre.

- Occurrence dans l'environnement : les composés mesurés dans les eaux de surfaces ont été hiérarchisés selon leurs niveaux de concentration : de l'ordre de la centaine de ng/L, de la dizaine ng/L et enfin de l'ordre du ng/L et inférieur. L'ensemble des études bibliographiques étudiées relatives aux données d'occurrence environnementale est cité dans la partie 6.3 de ce chapitre.

- Ecotoxicité : en raison de la diversité des organismes et des effets considérés ainsi que du manque d'études dans ce domaine et en particulier concernant les effets mélange, la caractérisation du risque écotoxique s'est faite sur une base qualitative par rapport aux valeurs seuils des effets individuels selon une échelle relative aux données disponibles rapportées dans la partie 7 de ce chapitre.

Depuis leurs sources jusqu'à leur devenir et leur impact dans les écosystèmes aquatiques, l'ensemble de ces critères de sélection est directement lié au cycle de ces composés dans l'environnement. Il est également apparu important de considérer deux aspects supplémentaires dans cette démarche de sélection :

- Famille chimique : ce paramètre traduisant l'appartenance à une famille (benzodiazépine par exemple) a été choisi dans une volonté de cohérence et de représentativité des familles chimiques

- Manque de données : à travers l'ensemble des données d'occurrence rassemblées par l'étude bibliographique réalisée, il apparait que certaines molécules sont peu étudiées et qu'il existe un manque de données nécessaires à leur caractérisation dans l'environnement.

Enfin et de façon plus pragmatique, la disponibilité des étalons analytiques commerciaux a constitué l'ultime critère d'exclusion de certains composés.

8.2. Liste des composés sélectionnés

La liste des 69 composés sélectionnés et les raisons principales de leur sélection sont présentées en TABLEAU 1.14 en fonction de leur appartenance à une classe thérapeutique (en code ATC). Chacune des molécules a été choisie dans une volonté de représentativité de l'ensemble des psychotropes :

- Antiépileptiques (N03) : 5 molécules sélectionnées

Les molécules sélectionnées appartiennent essentiellement la famille des dibenzoazépines dont fait partie la carbamazépine. En outre cette molécule consommée dans des quantités importantes est peu abattue en station d'épuration et ubiquiste dans l'environnement. Par ailleurs, son occurrence étant bien documentée, la concentration mesurée en carbamazépine constitue un point de comparaison intéressant pour caractériser la contamination d'un milieu. L'oxcarbazépine, autre dibenzoazépine est également très consommée. Ces deux raisons ont joué en faveur de sa sélection. Aussi, la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine, métabolite commun aux deux précédents et dont l'occurrence est peu documentée, complète la représentation de cette famille.

Le clonazépam a été choisi en raison de sont appartenance à la famille des benzodiazépines et du manque de données sur la présence dans l'environnement. Enfin, parmi les autres antiépileptiques n'appartenant pas à une famille chimique représentée par ailleurs, la gabapentine a été préférée à l'acide valproïque. En outre, la gabapentine est fortement consommée, excrétée, et partiellement abattue à l'épuration. Des concentrations importantes ont également mesurée dans les eaux de surface galoises et polonaises.

	ordre de grandeur de							
	consommation	excretion uriniaire	abattement STEP	occurrence STEP	occurrence milieu	potentiel écotoxique	famille chimique	manque de données
	important(e)							
	moyen(ne)							
	faible							
Antiépileptiques (N03)								
carbamazépine	≈ 10 000 kg	<30%	<30	≈ 1 000 ng.L^{-1}	≈ 100 ng.L^{-1}	faible	oui	faible
10,11 dihydrocarbazépine		<30%	ND	ND	ND	ND	oui	important
carbamazépine epoxide		<30%	ND	ND	≈ 1 ng.L-1		oui	moyen
dihydroxydihydrocarbamazépine		>70%	ND	ND	ND	ND	oui	important
gabapentine	≈ 10 000 kg	>70%	30-70%	≈ 1 000 ng.L^{-1}	≈ 100 ng.L^{-1}	ND	non	moyen
acide valproïque	≈ 10 000 kg	>70%	ND	ND	ND	ND	non	important
phénobarbital	≈ 1 000 kg	30-70%	ND	ND	ND	ND	non	important
clonazépam	≈ 100 kg	<30%	ND	ND	ND	ND	oui	important
oxcarbazepine	≈ 10 000 kg	<30%	ND	ND	ND	ND	oui	moyen
Analgésiques (N02)								
codéine	≈ 1 000 kg	>70%	ND	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	oui	faible
norcodéine		30-70%	ND	≈ 10 ng.L^{-1}	ND	ND	oui	faible
morphine	≈ 1 000 kg	>70%	>70	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	faible	oui	faible
oxycodone	≈ 100 kg	>70%	ND	ND	ND	ND	oui	moyen
paracétamol	≈ 10^{e}6 kg	>70%	>70	≈ 1 000 ng.L^{-1}	≈ 100 ng.L^{-1}	moyenne	non	faible
fentanyl	≈ 10 kg	30-70%	ND	ND	ND	ND	non	important
tramadol	≈ 10 000 kg	30-70%	<30%	≈ 1 000 ng.L^{-1}	≈ 100 ng.L^{-1}	ND	non	moyen
norfentanyl		30-70%	ND	ND	ND	ND	non	important
AINS (M01A)								
diclofénac	≈ 10 000 kg	<30%	30-70%	≈ 1 000 ng.L^{-1}	≈ 100 ng.L^{-1}	moyenne	non	faible
hydroxyibuprofène		<30%	ND	ND	≈ 100 ng.L^{-1}	ND	non	moyen
ibuprofène	≈ 100 000 kg	<30%	>70	≈ 1 000 ng.L^{-1}	≈ 100 ng.L^{-1}	moyenne	non	faible
carboxyibuprofène		30-70%	ND	ND	ND	ND	non	important
kétoprofène	≈ 10 000 kg	>70%	>70%	≈ 1 000 ng.L^{-1}	≈ 100 ng.L^{-1}		non	faible
métabolites diclofénac		>70%	ND	ND	ND	ND	non	important
naproxène	≈ 10 000 kg	>70%	>70%	≈ 1 000 ng.L^{-1}	≈ 100 ng.L^{-1}	moyenne	non	faible
Myorelaxant (M03)								
tétrazépram	≈ 1 000 kg	<30%	ND	ND	ND	ND	oui	important

TABLEAU 1.13 – Synthèse des critères selon leur ordre de grandeur ou d'importance pour la sélection d'une liste liste de molécules d'intérêt dans l'environnement

	ordre de grandeur de							
	consommation	excretion uriniaire	abattement STEP	occurrence STEP	occurrence milieu	potentiel écotoxique	famille chimique	manque de données
	important(e)							
	moyen(ne)							
	faible							
Psycholeptiques (N05)								
alprazolam	≈ 100 kg	<30%	<30%	≈ 10 ng.L^{-1}	≈ 10 ng.L^{-1}	ND	oui	faible
3-hydroxy-bromazépam		<30%	ND	ND	ND	ND	oui	important
autre métabolite bromazépam		30-70%	ND	ND	ND	ND	oui	important
bromazépam	≈ 1 000 kg	<30%	>70%	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 10 ng.L^{-1}	ND	oui	faible
clorazépate	≈ 1 000 kg	<30%	ND	ND	ND	ND	oui	important
diazépam	≈ 100 kg	30-70%	<30%	≈ 10 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	faible	oui	faible
lorazépam	≈ 100 kg	>70%	ND	≈ 1 000 ng.L^{-1}	≈ 10 ng.L^{-1}	ND	oui	faible
lormétazépam	≈ 10 kg	>70%	ND	ND	ND	ND	oui	important
métabolites zolpidem		>70%	ND	ND	ND	ND	non	important
nordazépam	≈ 100 kg	<30%	<30%	≈ 10 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	oui	faible
prazépam	≈ 1 000 kg	ND	ND	ND	ND	ND	oui	important
oxazépam	≈ 1 000 kg	>70%	<30%%	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 100 ng.L^{-1}	ND	oui	faible
zolpidem	≈ 1 000 kg	ND	ND	ND	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	non	moyen
zopiclone	≈ 1 000 kg	<30%	ND	ND	ND	ND	non	important
zopiclone-N-oxyde		<30%	ND	ND	ND	ND	non	important
méprobamate	≈ 10 000 kg	<30%	ND	ND	ND	ND	non	moyen
métabolites méprobamate		>70%	ND	ND	ND	ND	non	important
hydroxyzine	≈ 1 000 kg	<30%	ND	ND	ND	ND	non	important
cyamemazine	≈ 1 000 kg	ND	ND	ND	ND	ND	non	important
antidépresseurs ISRS (N06AB)								
citalopram	≈ 1 000 kg	<30%	ND	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 10 ng.L^{-1}	faible	non	faible
fluoxétine	≈ 1 000 kg	<30%	30-70%	≈ 10 ng.L^{-1}	≈ 10 ng.L^{-1}	forte	non	faible
paroxétine	≈ 1 000 kg	<30%	ND	≈ 10 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	forte	non	faible
sertraline	≈ 1 000 kg	<30%	ND	ND	≈ 1 ng.L^{-1}	fotre	non	moyen
desméthylcitalopram		<30%	ND	≈ 10 ng.L^{-1}	ND	ND	non	moyen
didesmethylcitalopram		ND	ND	ND	ND	ND	non	important
metabolite paroxétine		<30%	ND	ND	ND	ND	non	important
norfluoxétine		ND	ND	≈ 10 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	non	moyen
norsertraline		ND	ND	ND	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	non	moyen

TABLEAU 1.13 – Synthèse des critères selon leur ordre de grandeur ou d'importance pour la sélection d'une liste liste de molécules d'intérêt dans l'environnement (suite)

	ordre de grandeur de							
	consommation	excretion uriniaire	abattement STEP	occurrence STEP	occurrence milieu	potentiel écotoxique	famille chimique	manque de données
	important(e)							
	moyen(ne)							
	faible							
antidéprésseurs IMAO (N06AA)								
10-hydroxynortriptyline		30-70%	ND	ND	ND	ND	non	important
amitriptyline	≈ 1 000 kg	<30%	30-70%	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	non	faible
doxépine	≈ 10 kg	<30%	30-70%	≈ 10 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	non	faible
métabolites de impramine		>70%	ND	ND	ND		non	important
imipramine	≈ 10 kg	<30%	>70%	≈ 10 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	non	moyen
autres antidépresseurs (N06AX)								
métabolites tianeptine		>70%	ND	ND	ND	ND	non	important
miansérine	≈ 1 000 kg	<30%	ND	ND	ND	forte	non	moyen
O-desméthylvenlafaxine		30-70%	ND	ND	ND	ND	non	moyen
tianeptine	≈ 1 000 kg	<30%	ND	ND	ND	ND	non	important
venlafaxine	≈ 10 000 kg	<30%	<30%	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 100 ng.L^{-1}	forte	non	faible
sympathicomimétiques centraux (N06BA)								
amphétamine	faible	30-70%	>70%	≈ 10 ng.L^{-1}	ND	ND	oui	moyen
méthamphétamine	faible	30-70%	>70%	≈ 10 ng.L^{-1}	ND	ND	oui	moyen
excitants légers								
caféine	forte	<30%	ND	ND	≈ 100 ng.L^{-1}	ND	non	faible
nicotine	forte	<30%	ND	ND	ND	ND	non	moyen
cotinine		<30%	ND	ND	ND	ND	non	important
anti-Alzheimer (N06D)								
donépézil	≈ 100 kg	<30%	ND	ND	ND	ND	non	important
rivastigmine	≈ 10 kg	<30%	ND	ND	ND	ND	non	important
mémantine	≈ 100 kg	>70%	ND	ND	ND	ND	non	important
galantamine	≈ 100 kg	30-70%	ND	ND	ND	ND	non	important
substitutifs aux opiacés (N07BC)								
buprénorphine	≈ 100 kg	>70%	ND	ND	ND	ND	oui	important
méthadone	≈ 100 kg	30-70%	<30%	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	non	faible
EDDP		<30%	<30%	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	non	moyen

TABLEAU 1.13 – Synthèse des critères selon leur ordre de grandeur ou d'importance pour la sélection d'une liste liste de molécules d'intérêt dans l'environnement (suite)

	ordre de grandeur de							
	consommation	**excretion uriniaire**	**abattement STEP**	**occurrence STEP**	**occurrence milieu**	**potentiel écotoxique**	**famille chimique**	**manque de données**
	important(e)							
	moyen(ne)							
	faible							
Substances illicites								
Δ–THC	forte	<30%	ND	ND	ND	ND	non	important
TCH-COOH		>70%	ND	ND	ND	ND	non	important
cocaïne	moyenne	<30%	>70%	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	non	important
benzoylecgonine		30-70%	>70%	≈ 100 ng.L^{-1}	≈ 10 ng.L^{-1}	ND	non	important
cocaéthylène		si EtOH[b]	ND	ND	ND	ND	non	important
MDMA	faible	<30%	30-70%	≈ 10 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	oui	important
MDA	faible	ND	ND	≈ 10 ng.L^{-1}	≈ 1 ng.L^{-1}	ND	oui	important
mCPP	faible	ND	ND	ND	ND	ND	non	important
méphédrone	faible	ND	ND	ND	ND	ND	non	important
héroïne	faible	<30%	ND	ND	ND	ND	oui	important
6-acetyl-morphine		<30%	ND	ND	ND	ND	oui	important

métabolite : pas de donnée de consommation

[a] : ND : Non Determiné par rapport aux données issus de la recherche bibliographique éffectuée dans ce chapitre

[b] : métabolite présent en cas de consommation concomitante de cocaïne et d'alcool

TABLEAU 1.13 – Synthèse des critères selon leur ordre de grandeur ou d'importance pour la sélection d'une liste liste de molécules d'intérêt dans l'environnement (suite)

	raison(s) de la sélection
Antiépileptiques (N03)	
carbamazépine	consommation, abattement, occurrence, famillle (dibenzoazépine)
clonazépam	famille (benzodiazépine), manque de données
dihydroxydihydrocarbamazépine	métabolite de la carbamazépine, de l'oxcarbazépine, famille (dibenzoazépine), manque de données
gabapentine	consommation, excrétion, abattement, occurrence
oxcarbazepine	consommation, famille (dibenzoazépine)
Analgésiques (N02)	
codéine	consommation, excrétion, occurrence, famille (opiacé)
codéine 6-B-glucuronide	métabolite codéine, excrétion, manque de données
norcodéine	métabolite de la codéine, abattement, famille (opiacé)
morphine	parent et métabolite de la codéine, de l'héroïne, excrétion, occurrence, famille (opiacé)
morphine 3-B-glucuronide	métabolite morphine, excrétion, manque de données
morphine 6-B-glucuronide	métabolite morphine, excrétion, manque de données
oxycodone	excrétion, famille (opiacé)
paracétamol	consommation, excrétion, occurrence
tramadol	consommation, excrétion, abattement, occurrence, famille (opiacé)
AINS (M01A)	
diclofénac	consommation, abattement, occurrence)
hydroxyibuprofène	métabolite ibuprofène, manque d'information,
ibuprofène	consommation, occurrence
ibuprofène glucuronide	métabolite ibuprofène, manque de données
carboxyibuprofène	métabolite ibuprofène, manque d'information
kétoprofène	consommation, excrétion, occurrence
kétoprofène glucuronide	métabolite kétoprophène, excrétion, manque de données
naproxène	consommation, excrétion, occurrence
naproxène glucuronide	métabolite naproxène, excrétion, manque de donnée
Myorelaxant (M03)	
tétrazépram	consommation, manque d'information, famille (benzodiazépine)
Psycholeptiques (N05)	
alprazolam	abattement, famille (benzodiazépine)
3-hydroxy-bromazépam	métabolite bromazépam, famille (benzodiazépine), manque d'information
bromazépam	consommation, famille (benzodiazépine)
clorazépate	consommation, famille (benzodiazépine), besoin d'information
diazépam	excrétion, abattement, famille (benzodiazépine)
lorazépam	excrétion, occurrence, famille (benzodiazépine)
lormétazépam	métabolite lorazépam, excrétion, famille (benzodiazépine), besoin d'information
ac. zolpidem-4-phenyl carbox.	métabolite zolpidem, excrétion, besoin d'information
ac. zolpidem 6-carbox.	métabolite zolpidem, excrétion, besoin d'information
nordazépam	métabolite du diazépam, abattement, occurrence, famille (benzodiazépine)
prazépam	consommation, famille (benzodiazépine), besoin d'information
oxazépam	consommation, métabolite d'autre benzodiazépine, excrétion, abattement, occurrence, famille (benzodiazépine)
oxazépam glucuronide	métabolite oxazépam, excrétion
zolpidem	consommation, besoin d'information
zopiclone	consommation, besoin d'information
zopiclone-N-oxyde	métabolite zopiclone, besoin d'information
méprobamate	consommation, besoin d'information
antidépresseurs ISRS (N06AB)	
citalopram	consommation, occurrence
fluoxétine	consommation, abattement, écotoxicité
paroxétine	consommation, écotoxicité
sertraline	consommation, écotoxicité
desméthylcitalopram	métabolite citalopram
métabolite paroxétine	métabolite paroxétine, besoin d'information
norfluoxétine	métabolite fluoxétine
norsertraline	métabolite sertaline

TABLEAU 1.14 – Liste des 69 composés sélectionnés

	raison(s) de la sélection
autres antidépresseurs (N06AX)	
miansérine	consommation, écotoxicité
O-desméthylvenlafaxine	métabolite venlafaxine, excrétion
O-desméthylvenlafaxine glucuronide	métabolite venlafaxine
tianeptine	consommation, manque d'information
venlafaxine	consommation, abattement, occurrence, écotoxicité
anti-Alzheimer (N06D)	
donépézil	besoin d'information
rivastigmine	besoin d'information
mémantine	besoin d'information, abattement
galantamine	besoin d'information, abattement
substitutifs aux opiacés (N07BC)	
buprénorphine	excrétion, famille (opiacé), besoin d'information
buprénorphine glucuronide	métabolite buprénorphine, excrétion
méthadone	excrétion, abattement, occurrence
EDDP	métabolite méthadone, abattement
Substances illicites	
cocaïne	consommation, occurrence, manque de données
benzoylecgonine	métabolite cocaïne, excrétion, occurrence, manque de données
cocaéthylène	métabolite cocaïne, besoin d'information, manque de données
MDMA	abattement, occurrence, manque de données
MDA	métabolite MDMA, occurrence, manque de données
méphédone	manque de données
mCPP	manque de données

TABLEAU 1.14 – Liste des 69 composés sélectionnés (suite)

- Analgésiques (N02) : 9 molécules sélectionnées

Les molécules sélectionnées appartiennent essentiellement la famille des opiacés parmi lesquelles la morphine, la codéine, et leurs métabolites glucuronidés ainsi que la norcodéine. La morphine est également un métabolite commun à d'autres molécules de la même famille comme la codéine par exemple. Leur présence dans le milieu aquatique est par ailleurs régulièrement constatée. Bien que n'appartenant pas techniquement à la famille des opiacés, l'oxycodone, opioïde semi-synthétique dérivé de la thébaine, présente la même structure pentacyclique que les autres composés précédemment cités. Aussi, l'occurrence environnementale de cet analgésique puissant est peu renseignée.

Le tramadol fait partie des médicaments les plus vendus en France et dont l'abattement en station d'épuration est limité. Sa présence à des concentrations importantes a été constatée dans des eaux de surface à l'étranger.

Enfin, comme il l'a été mentionné plus tôt dans ce chapitre, le paracétamol (acétaminophène) a été choisi intégré à l'étude en tant que médicament non psychotrope de consommation courante. Avec chaque année plusieurs milliers de tonnes, il s'agit de loin du principe actif le plus consommé. Ce composé est ubiquiste dans l'environnement et très documenté. Cela en fait un marqueur et un point de comparaison intéressant du niveau de contamination de la masse d'eau étudiée.

- AINS (M01A) : 9 molécules sélectionnées

Les composés de cette famille thérapeutique (non psychotropes) ont été choisis pour les mêmes raisons que le paracétamol. Elle rassemble le diclofénac, l'ibuprofène, le kétoprofène et le naproxène. A ces composés parents ont été ajoutés, selon leur pertinence, les principaux métabolites dont certains glucuronides.

- Myorelaxant (M03) : 1 molécule sélectionnée

Le tétrazépam est une molécule consommée de façon importante mais pour laquelle peu d'information est disponible. Ce principe actif est assimilé à la famille des benzodiazépines. Le diazépam et le nordazépam sont d'ailleurs ses métabolites principaux. (NB : à l'époque de la sélection, l'AMM du tétrazépam n'avait pas encore été retirée)

- Psycholeptiques (M05) : 17 molécules sélectionnées

Les molécules sélectionnées appartiennent quasi exclusivement à la famille des benzodiazépines. A l'exception du bromazépam, du clorazépate, du prazépam et de l'oxazépam les autres molécules sélectionnées ne sont pas consommées dans des quantités importantes. Cela est imputable au nombre important de molécules dans cette classe thérapeutique. Toutefois, en cumulé, les benzodiazépines sont prescrites de façon importante. Elles sont globalement peu éliminées dans les stations d'épuration. Enfin, il existe une forte connexion entre ces molécules dont certains composés parents sont également métabolite comme le diazépam, le nordazépam, le lormétazépam et surtout l'oxazépam. Ce dernier est d'ailleurs principalement excrété sous sa forme glucuronidée qui fait également partie de la sélection. Le bromazépam présente un schéma métabolique différent des autres benzodiazépines. Un de ces métabolites principaux (produit hydroxylé du clivage sur le cycle azépine) n'a pas pu être sélectionné car aucun étalon analytique commercial n'a pu être trouvé. En conséquence, seul le 3-hydroxy-bromazépam a été choisi.

Le zolpidem et le zopiclone ont été sélectionnés car il s'agit des somnifères les plus vendus en France, leurs principaux métabolites font également partie de la liste finale. Malgré leur utilisation courante, il existe un manque de données pour renseigner l'occurrence de ces molécules dans l'environnement.

Enfin, le méprobamate, est l'un des médicaments les plus prescrits pour le sevrage de l'alcoolisme et plusieurs dizaines de tonnes en sont consommées chaque année. (NB : à l'époque de la sélection, l'AMM du méprobamate n'avait pas encore été retirée).

- Antidépresseurs ISRS (N06AB) : 8 molécules sélectionnées

Au vu des données de consommation, les antidépresseurs de type ISRS ont été préférés aux antidépresseurs de type IMAO. De plus les données d'occurrence rapportées dans la bibliographie ont privilégié le choix du citalopram dont le métabolite principal a également été choisi. Les considérations d'écotoxicité ont, quant à elles, motivé la sélection de la fluoxétine, de la paroxétine et de la sertraline. Leurs principaux métabolites leur ont également été associés.

- Autres antidépresseurs (N06AX) : 5 molécules sélectionnées

Les composés parents choisis dans cette catégorie complète la sélection des antidépresseurs les plus représentatifs de la consommation française. Parmi eux, la venlafaxine se distingue comme la molécule la plus consommée. De plus une étude a rapporté un abattement nul à travers le procédé d'épuration avec traitement secondaire sur boue activée. Des concentrations importantes ont été mesurées dans des eaux de surface sur le continent américain (Etats-Unis et Canadien). Enfin des effets toxiques

sur des larves de poissons d'eaux douces ont été observés à concentration environnementale pertinente. Toutes ces raisons en font un candidat incontournable auquel a été ajouté son métabolite principal excrété, dans des proportions non négligeables, ainsi que sa forme glucuronidée. Concernant la sélection de la miansérine et la tianeptine, les critères d'écotoxicité et de manque d'information ont respectivement joué en leur faveur.

- Anti-alzheimer (N06D) : 4 molécules sélectionnées

L'ensemble des composés de cette classe thérapeutique disponibles sur le marché a été sélectionné. Aucune de ces molécules (mémantine, galantamine, rivastigmine et donépézil) n'a été étudiée dans le cadre d'une étude environnementale. Ce manque total de données ainsi que la possibilité d'aborder la classe thérapeutique dans son ensemble ont été déterminantes dans le choix de ces analytes dont la consommation est certes faible mais en progression.

- Substitutifs aux opiacés (N07BC) : 4 molécules sélectionnées

La buprénorphine et la méthadone sont prescrites en traitement substitutif des opiacés chez les consommateurs d'héroïne. Leur consommation en terme de tonnage est relativement faible pourtant ces molécules figurent régulièrement aux classements ANSM des molécules les plus vendues. La buprénorphine est principalement excrétée sous sa forme glucuronidée. Le manque d'informations relatives à son occurrence environnementale a motivé son inclusion à la liste finale. Concernant la méthadone, et son métabolite majeur, l'EDDP, les taux d'abattement en station d'épuration ont constitué les principaux critères de choix. Ces composés ont été par ailleurs mesurés dans les eaux de surfaces.

- Substances illicites : 7 molécules sélectionnées

Les substances illicites ont été caractérisées dans les eaux de surfaces pour la première fois au début des années 2000 en Italie. Depuis, des campagnes de mesures ont confirmée leur occurrence dans les eaux de surface européenne. Le cannabis est la drogue récréative de loin la plus consommée, toutefois au regard des données de métabolisation du TCH, et des études conduites à l'étranger sur la caractérisation du TCH-COOH dans l'environnement ces analytes n'ont pas été retenus dans la liste finale. L'héroïne et la 6-acétyl-morphine n'ont pas été choisies pour les mêmes raisons. En revanche, la cocaïne et son métabolite principal, la benzoylecgonine, sont régulièrement quantifiés dans le milieu. Toutefois, l'occurrence de ces molécules dans les eaux de surface n'a jamais été démontrée en France. Ainsi, l'établissement de telles données permettrait de comparer les niveaux de contamination pour ce type de substances avec d'autres pays. Les mêmes raisons ont conduit à la sélection de la MDMA et de la MDA. Enfin, le choix de la mCPP et de la méphédrone constitue une volonté d'exploration de nouvelles substances dont l'utilisation est mentionnée par les organismes d'observation des tendances de consommation de drogues mais pour lesquelles aucune donnée n'est disponible.

Chapitre 2

Développement d'une méthode multi-résidus SPE-UPLC-MS² pour la recherche d'une liste de psychotropes pertinents dans l'environnement aquatique

1. Présentation des molécules sélectionnées 86
1.1. Les substances illicites 86
1.2. Les antiépileptiques 87
1.3. Les benzodiazépines et molécules associées 88
1.4. Les opiacés et opioïdes 91
1.5. Autre psycholeptique 92
1.6. Les antidépresseurs 93
1.7. Les médicaments contre la démence : anti-Alzheimer 95
1.8. Autres médicaments de consommation courante 96

2. Etude bibliographique des techniques utilisées pour l'analyse des composés sélectionnés dans des eaux naturelles 99
2.1. Préparation de l'échantillon 99
2.2. Analyse : séparation et détection 103
2.3. Les effets matrices 108
2.4. Performances de méthodes existantes pour la caractérisation de résidus de psychotropes, paracétamol et AINS dans des eaux résiduaires, de surface et de boisson 109

3. Méthode multi-résidus SPE-UPLC-MS² 116
Article : *Step by step development of a multi-residue method for scrutinizing the occurrence of psychotropic compounds in French continental and drinking waters* 118
Abstract 118
1. Introduction 119
2. Material and method 120
3. Results and discussion 124
4. Conclusion and perspectives 140
Supplementary Information 141

Bibliographie 305

ANNEXE 2.1 – Techniques de préparation d'échantillons environnementaux utilisées dans la littérature 345
ANNEXE 2.2 – Phases stationnaires utilisées dans la littérature pour la séparation en chromatographie liquide de certains composés sélectionnés 346
ANNEXE 2.3 – Types d'analyseurs de masses utilisés dans la littérature pour la caractérisation de certains composés sélectionnés 347

1. Présentation des molécules sélectionnées

Toutes les molécules sélectionnées (à l'exception du paracétamol, des AINS et de leurs métabolites) possèdent un dénominateur commun : une action de *« tropisme »* sur le système nerveux central. Toutefois, leurs usages, leurs modes d'action et leurs structures en font un ensemble de molécules hétérogènes.

1.1. Les substances illicites

La FIGURE 2.1 présente les structures, formules chimiques, masses moléculaires et numéro de CAS des substances illicites et de leurs métabolites sélectionnés.

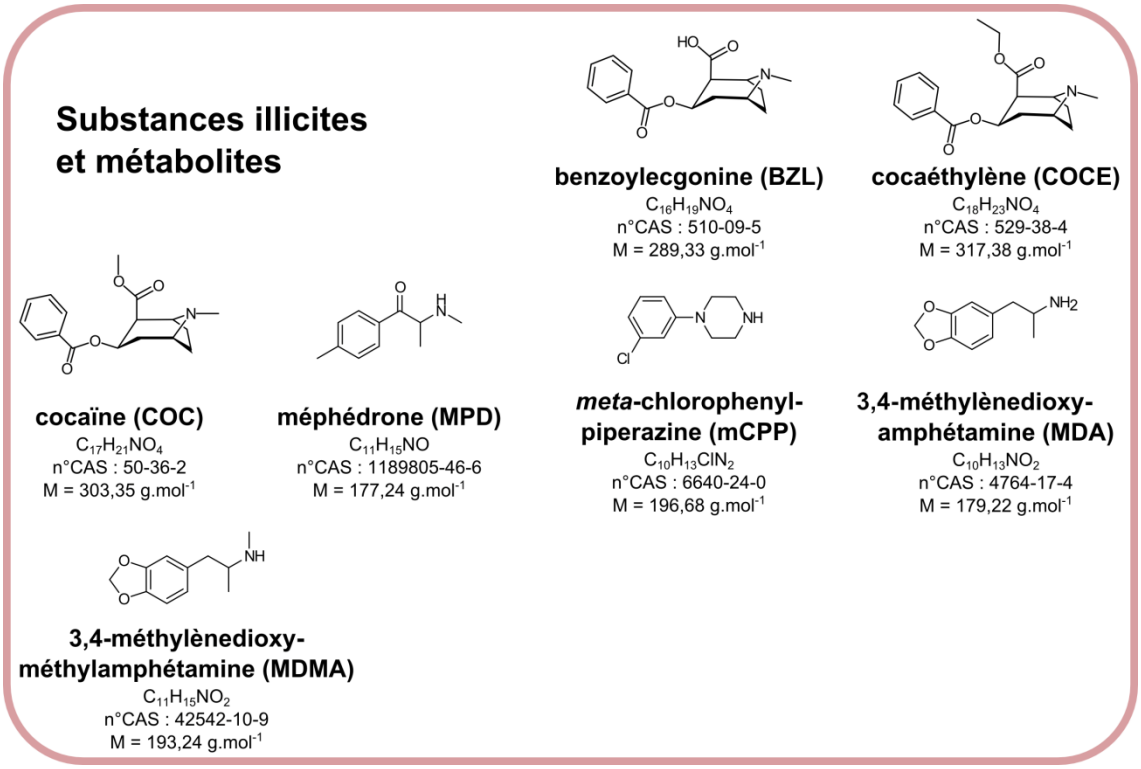


FIGURE 2.1 – Structures des substances illicites et de leurs métabolites sélectionnés

La cocaïne est une substance naturelle extraite du cocaïer (*Erythroxylon coca*). La feuille de coca est traditionnellement mastiquée chez les populations andines pour ses propriétés excitantes et anesthésiantes : elle stimule la respiration, supprime la sensation de faim, de soif, de froid ou de fatigue (Pelt, 1983). L'alcaloïde principal de la coca, la cocaïne, est consommée aujourd'hui pour ses propriétés stimulantes. Sous sa forme chlorhydrate, la cocaïne est la deuxième substance illicite la plus consommée en France. Son usage ne concerne toutefois qu'une petite frange de la population : 400 000 personnes en auraient consommée au cours de l'année 2010 (OFDT, 2013). Son utilisation est néanmoins en augmentation : elle a triplé entre 2000 et 2010 en passant de 0,3% à 0,9% chez les 18-64 ans (OFDT, 2013). Le nombre d'interpellations pour usage, revente et trafic a, quant à lui, plus que doublé entre 2000 et 2008 après avoir déjà triplé entre 1990 et 2000 (HAS, 2010). Ce rythme d'accroissement est

supérieur à celui de l'ensemble des interpellations pour les mêmes motifs pour d'autres drogues. Une fois consommée, la cocaïne est majoritairement métabolisée en benzoylecgonine dont 35 à 54% de la dose est excrétée sous forme libre dans les urines (Baselt, 2009). Lorsqu'elle est consommée de façon concomitante avec de l'alcool, la cocaïne est également métabolisée en cocaéthylène. Ce métabolite actif présente une toxicité plus forte que celle de son composé parent (Nahas et al., 1992).

Les amphétamines sont des molécules synthétiques consommées pour leurs propriétés stimulantes. La prise d'amphétamines hors cadre médical concerne surtout la 3,4-méthylène-dioxy-méthylamphétamine ou MDMA plus connue sous le nom d'extasy. La consommation de MDMA reste relativement faible. Parmi les 15-34 ans, population pour laquelle la consommation est plus importante, la prévalence annuelle est de respectivement 0,4% pour la MDMA et 0,5% pour les autres amphétamines (OFDT, 2013). Ces chiffres placent la France sous la moyenne de consommation en Europe. A tritre de comparaison, ces chiffres sont quatre à cinq fois supérieurs au Royaume-Uni ou en Allemagne (OFDT, 2013).

Pour palier aux pénuries occasionnelles de MDMA, d'autres molécules ou drogues de synthèse comme la mCPP (meta-chlorophenylpiperazine) viennent la substituer. Celles-ci sont alors vendues en lieu et place de la MDMA. En 2009, cette substitution par la mCPP aurait concerné environ 70% des cachets d'extasy et 10% des poudres (Gandilhon et al., 2010).

1.2. Les antiépileptiques

La FIGURE 2.2 présente leurs structures, formules chimiques, masses moléculaires et numéros CAS. L'épilepsie est une maladie neurologique chronique caractérisée par des crises récurrentes. Le syndrome épileptique est défini par une perturbation de l'activité électrique du cerveau se traduisant par une décharge anormale des neurones au sein du système nerveux central (Kanous et al., 2012). 3 molécules antileptiques et 1 métabolite ont été sélectionnés.

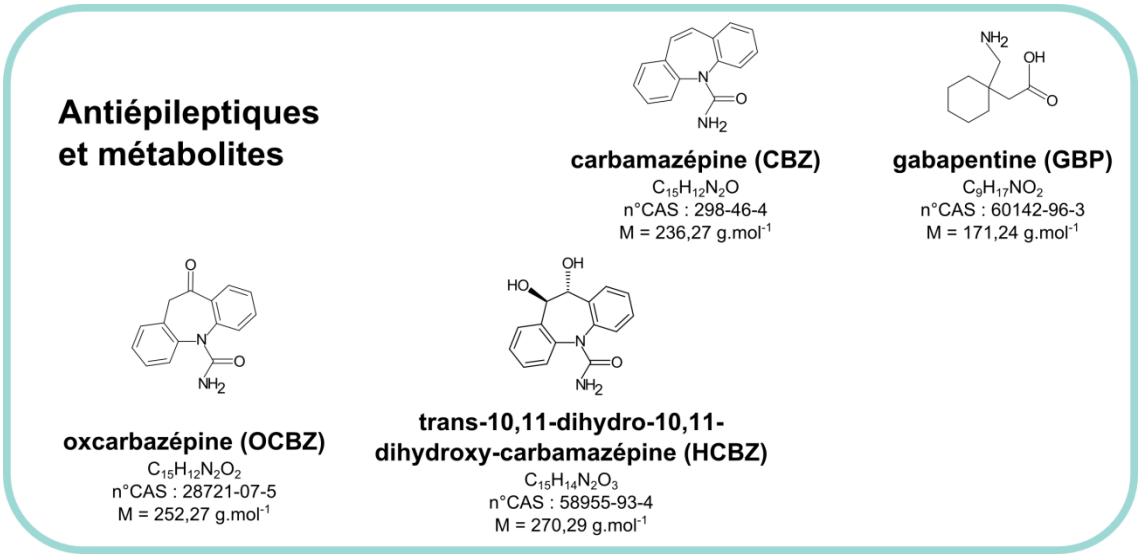


FIGURE 2.2 – Structures des antiépileptiques et de leurs métabolites sélectionnés

L'OMS estime que 50 millions de personnes sont atteintes d'épilepsie dans le monde et que sa prévalence moyenne dans la population européenne est de 0,8% (WHO, 2005). Après la migraine, l'épilepsie est la maladie neurologique la plus fréquente et concerne environ 500 000 personnes en France (Epilepsie-France, 2007). Les médicaments antiépileptiques comme la carbamazépine (Tégrétol®) font d'ailleurs partie des psychotropes les plus consommés. La Caisse Primaire d'Assurance Maladie rembourse chaque année environ 20 millions de boîtes de médicaments antiépileptiques (CPAM, 2013). En termes d'équivalent massique de principe actif cela représente plus de 250 tonnes (calculée d'après les données (CPAM, 2010)).

Parmi les médicaments antiépileptiques sélectionnés figurent la carbamazépine, l'oxcarbazépine et la gabapentine. L'action pharmacologique de la carbamazépine repose sur l'inhibition de la propagation du signal électrique aberrant par inactivation des canaux ioniques neuronaux « Na^+ » (Macdonald et al., 1995). L'oxcarbazépine est quant à elle une prodrogue céto-analogue à la carbamazépine. Son hydroxylation produit un principe actif au mode d'action similaire avec un effet supplémentaire supposé sur les canaux ioniques « Ca^{2+} » (McLean et al., 1994). La 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine est un métabolite commun à la carbamazépine et l'oxcarbazépine. Ces trois molécules tricycliques sont formées par deux cycles benzéniques encadrant un cycle azépine. La structure de la gabapentine est singulièrement différente. Celle-ci correspond à celle de l'acide γ-aminobutyrique (GABA) substitué par un cyclohexane. Le GABA est le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central. Bien qu'elle ait été conçue comme un GABA-agoniste, la gabapentine n'agit pas comme tel mais stimule la sécrétion non-vésiculaire du GABA à travers un mécanisme non défini (Kanous et al., 2012; Taylor et al., 1998).

1.3. Les benzodiazépines et molécules associées

La FIGURE 2.1 présente les structures, formules chimiques, masses moléculaires et numéro de CAS des benzodiazépines, *« Z-drugs »* et de leurs métabolites sélectionnés.

Les benzodiazépines sont prescrites comme anxiolytiques, sédatifs, hypnotiques, anticonvulsifs ou encore comme relaxants musculaires (Allgulander et al., 2010; Offermanns et al., 2008b; Stein, 2010). Les benzodiazépines font partie des psychotropes les plus consommés au monde et plus particulièrement en Europe (INCB, 2010). La France ne fait pas exception puisqu'en 2000, 17,4% de la population française protégée par le régime général a bénéficié du remboursement d'un anxiolytique et 8,8% d'un hypnotique (Lecadet et al., 2003). Plus récemment, l'ANSM a rapporté que 131 millions de boîtes ont été vendues et que 11,5 millions de français en avaient consommé au moins une fois au cours de l'année 2012 (ANSM, 2013a). Cela place la France dans les premières places au niveau européen et mondial en terme de consommation de ce type de molécules (ANSM, 2013a; Gasquet et al., 2005).

En 2012, sur les 22 benzodiazépines et *« Z-drugs »* commercialisées en France, un peu plus de la moitié des médicaments consommés sont des anxiolytiques et 40% des hypnotiques. Les myorelaxants et antiépileptiques représentent quant à eux respectivement environ 5 et 1% de la consommation totale (ANSM, 2013a). Pour ces classes pharmaco-thérapeutiques une seule molécule est disponible (tétrazépam et clonazépam) (ANSM, 2013a). Depuis 2011, des mesures réglementaires plus strictes ont été adoptées concernant l'encadrement des prescriptions de clonazépam (ANSM, 2011). De plus, suite à la réévaluation de son rapport bénéfice/risque, l'AMM

(Autorisation de Mise sur le Marché) du tétrazépam a été suspendue depuis le mois de juillet 2013 (ANSM, 2013b).

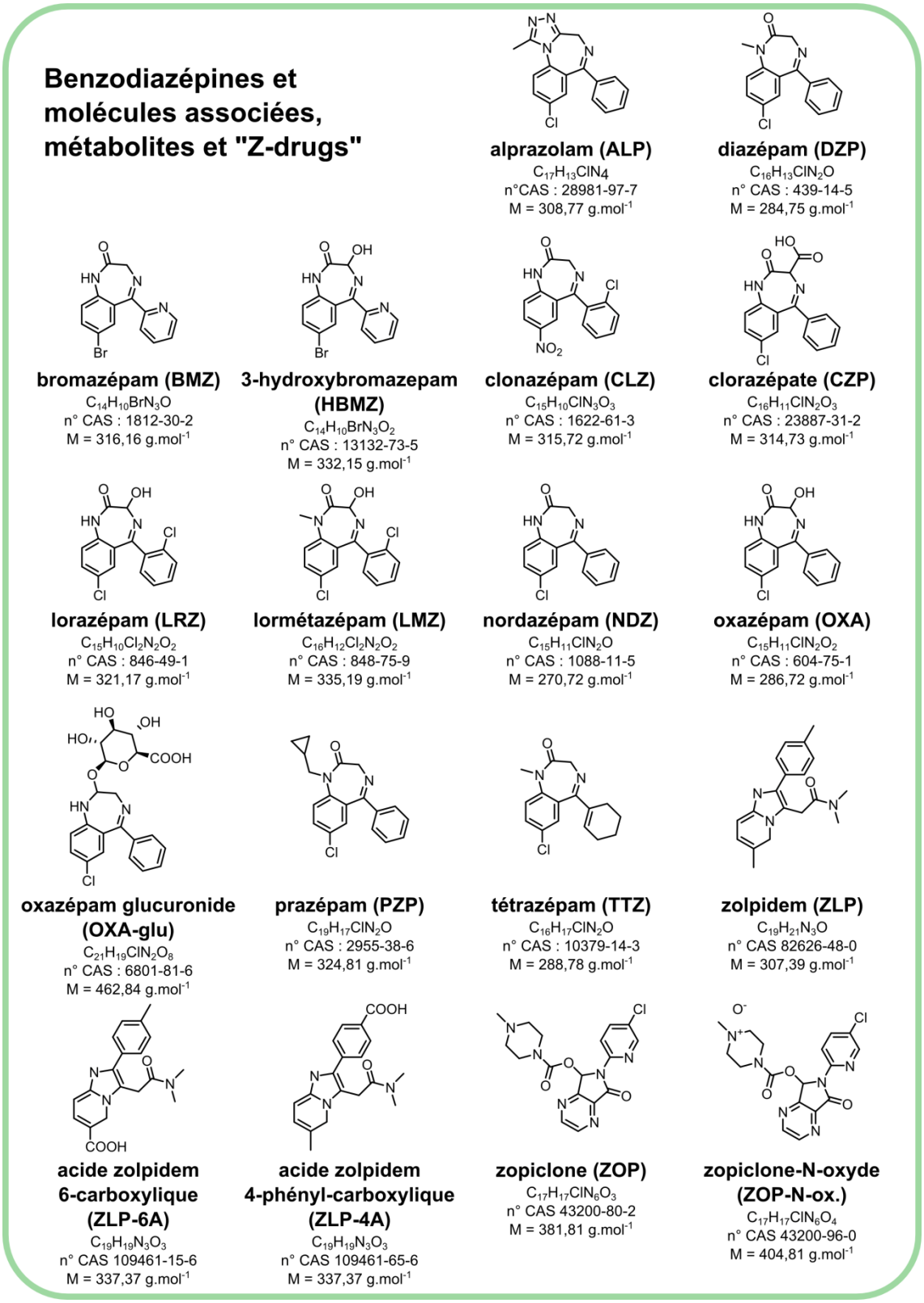


FIGURE 2.3 – Structures des benzodiazépines, « Z-drugs » et de leurs métabolites sélectionnés

Toutes les benzodiazépines présentent une similarité structurale. Comme leur nom l'indique, elles comprennent un cycle benzène *(benzo-)*, deux atomes d'azotes *(-diaza-*) et un cycle azoté à sept atomes *(-azépine)*. Le tétrazépam, chez qui un groupement cyclohexényle en 5 remplace le phényle classiquement présent, est l'unique exception. La similitude structurale entre ces molécules se traduit au niveau de leur chemin métabolique. Ce dernier est d'ailleurs commun à un certain nombre d'entre elles comme l'illustre la FIGURE 2.4.

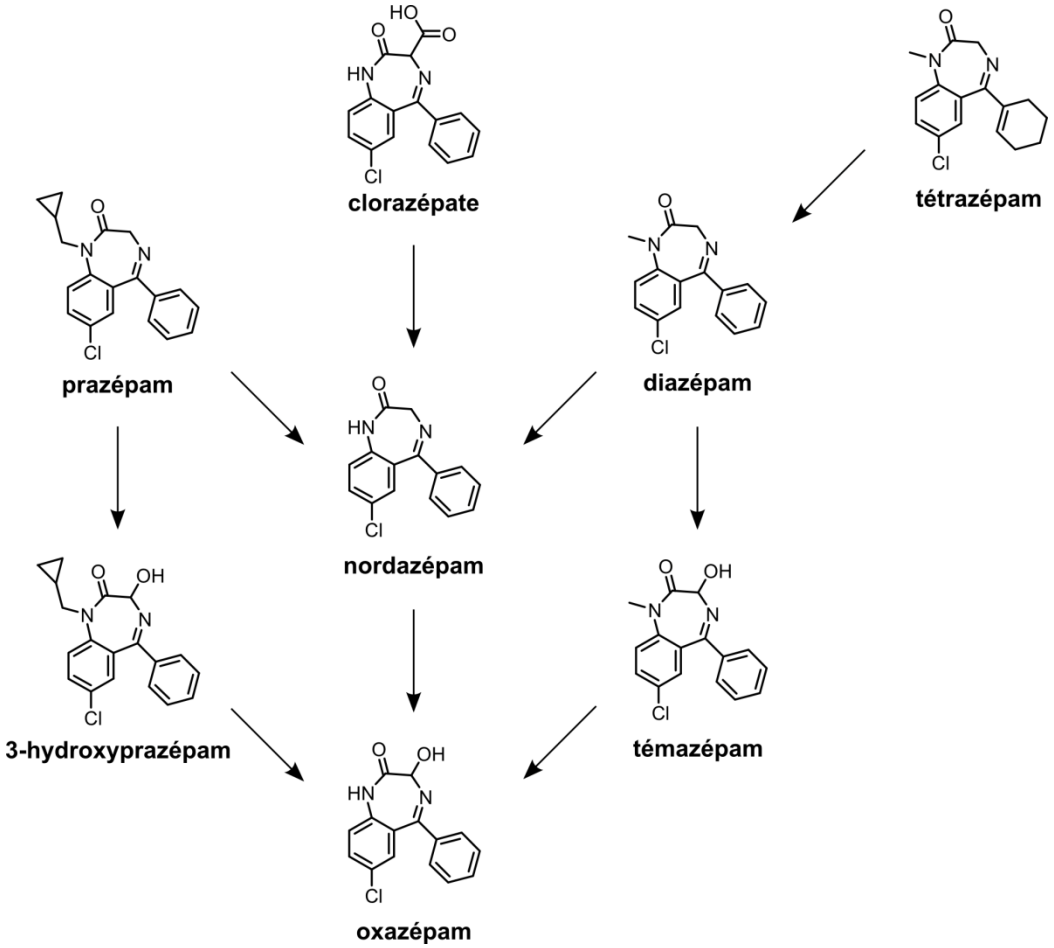


FIGURE 2.4 – Chemins métaboliques partiels de certaines benzodiazépines d'après (Baselt, 2009)

Les propriétés pharmacologiques des benzodiazépines reposent sur leur action sur le circuit du GABA (voir paragraphe 1.2). En effet, celles-ci se fixent aux récepteurs du GABA au niveau du site dit benzodiazépine. Cette fixation a pour effets d'augmenter la sensibilité de ces récepteurs ainsi que l'ouverture du canal ionique par lequel plus d'ions Cl^- pénètreront dans le neurone post-synaptique (Offermanns et al., 2008b). Aussi, les hypnotiques dits de troisième génération : zolpidem et zopiclone, aussi appelés *« Z-drugs »,* se fixent sur le même récepteur que les benzodiazépines (Offermanns et al., 2008b). C'est pour cette raison que ces molécules leurs sont associées bien qu'elles soient structuralement différentes. Avec 43 millions de boites vendues en 2012, le zolpidem et le zopiclone sont les somnifères les plus consommés aujourd'hui en France (ANSM, 2013a).

1.4. Les opiacés et opioïdes

La FIGURE 2.5 présente les structures, formules chimiques, masses moléculaires et numéro de CAS des opiacés, des opioïdes et de leurs métabolites sélectionnés.

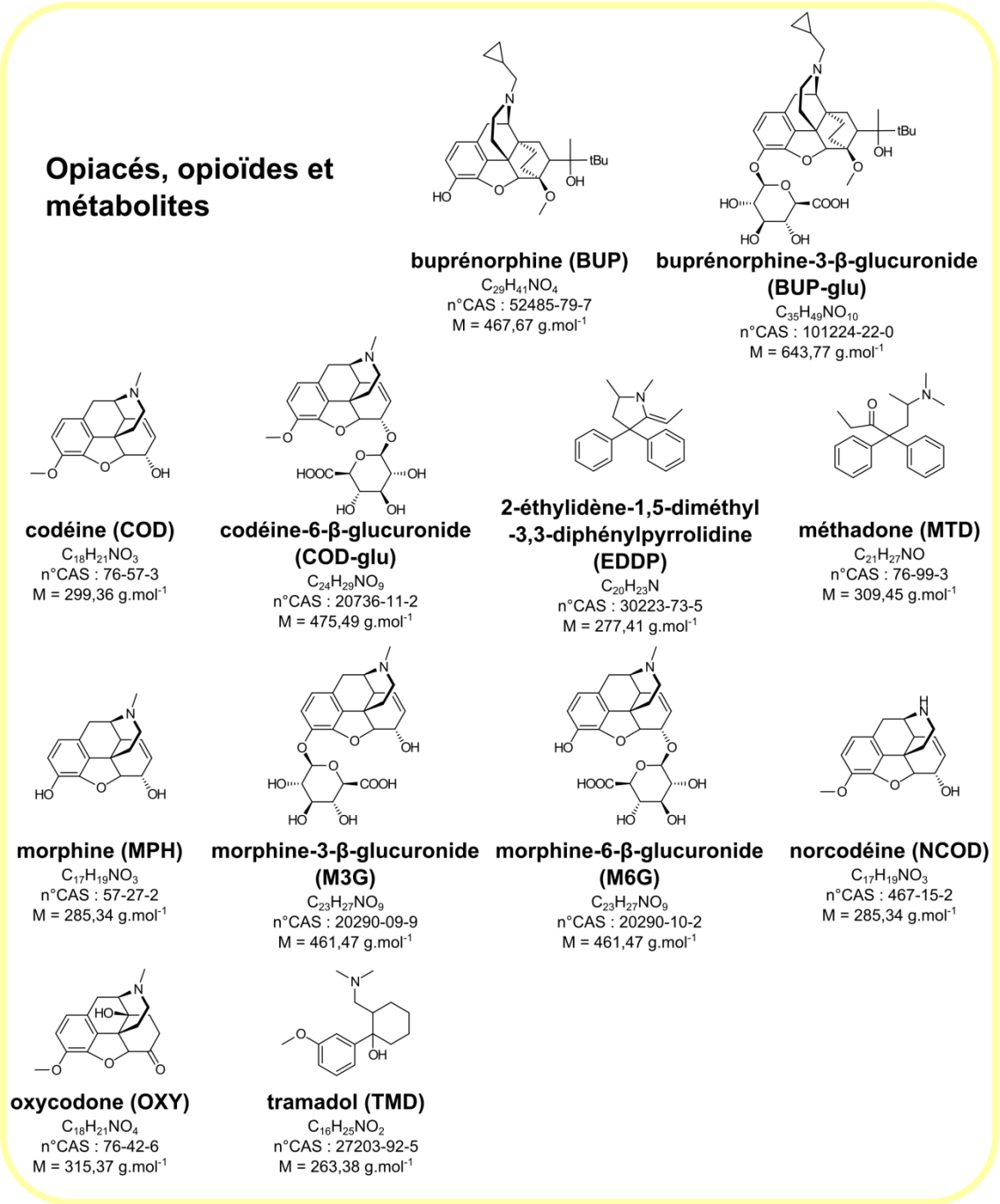


FIGURE 2.5 – Structures des opiacés, des opioïdes et de leurs métabolites sélectionnés

Le terme opiacé désigne les alcaloïdes naturels de l'opium comme la morphine ou la codéine. La désignation opioïde englobe pour sa part les composés synthétiques

ou hémi-synthétiques ayant une action sur les récepteurs aux opiacés. Certains opioïdes, comme l'oxycodone ou la buprénorphine, présentent la structure chimique pentacyclique caractéristique des opiacés. Au contraire certains composés comme la méthadone ou le tramadol affichent une structure différente.

L'opium est extrait du pavot (*Papaver Somniferum*) et est utilisé depuis des millénaires pour ses puissantes propriétés pharmacologiques (Pelt, 1983). Les alcaloïdes de l'opium et leurs dérivés restent à ce jour parmi les plus puissants analgésiques et anesthésiques (en antitussifs) connus. La morphine est par exemple notamment indiquée pour les traumatismes opératoires et dans le traitement de la douleur chez les patients cancéreux (Freye et al., 2007). Son dérivé méthylé, la codéine, est l'une des molécules les plus consommées pour ses propriétés antitussives et analgésiques. A titre d'exemple, plus de 6 tonnes de codéine ont été prescrites en France en 2009 (calculée d'après les données (CPAM, 2010)). L'action pharmacologique des opiacés repose sur leur action sur le système opioïde endogène qui joue un rôle majeur sur des fonctions vitales comme les circuits de la douleur, de la récompense, de l'humeur, de l'appétit et de la soif, de l'activité sexuelle, de la sédation, de la thermorégulation, des fonctions cardiovasculaires, de la respiration ou encore du transit gastro-intestinal (Bodnar, 2010). L'action particulière sur le circuit de la récompense fait des opiacés des molécules à fort caractère addictif. Le dérivé di-acétylé de la morphine, l'héroïne, est par exemple une drogue connue pour susciter une forte accoutumance. Elle est à ce titre classée en haut de l'échelle mondiale des stupéfiants. Pour aider les personnes touchées par la dépendance aux opiacés, des opioïdes à action pharmacologique agoniste sont utilisés. La méthadone et la buprénorphine sont les traitements substitutifs les plus prescrits en France avec plus de 13 et 9 tonnes respectivement en 2009 (calculée d'après les données (CPAM, 2010)).

Le tramadol est l'opioïde le plus consommé en France. A titre d'exemple, l'ixprim®, spécialité associant le tramadol et le paracétamol, était le 7ème médicament le plus vendu en officines en 2012 et plus de 21 millions de boîtes ont été remboursées par l'assurance maladie (ANSM, 2013c; CPAM, 2013).

1.5. Autre psycholeptique

Le méprobamate (Equanil®) est une molécule de la famille des carbamates aux propriétés anxyolitiques et myorelaxantes. Sa structure, sa formule chimique, sa masse moléculaire et son numéro CAS sont présentés en FIGURE 2.6.

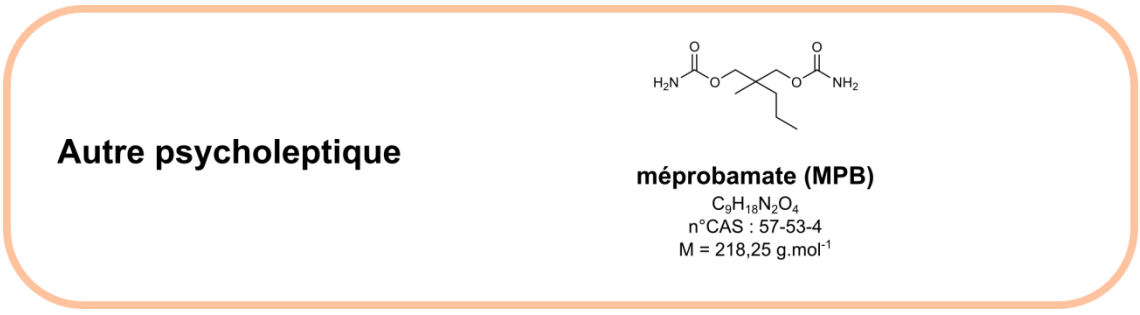


FIGURE 2.6 – Structure du méprobamate

A la suite de la procédure nationale de réévaluation du rapport bénéfice/risque, le méprobamate a été retiré du marché depuis le mois de janvier 2012 (ANSM, 2012). Il était alors l'un des médicaments les plus prescrits pour le sevrage de l'alcoolisme. Il a été maintenu dans l'étude afin d'étudier sa rémanence environnementale suite à l'arrêt officiel de sa prescription.

1.6. Les antidépresseurs

La FIGURE 2.7 et la FIGURE 2.8 présentent les structures, formules chimiques, masses moléculaires et numéros CAS des antidépresseurs et de leurs métabolites sélectionnés.

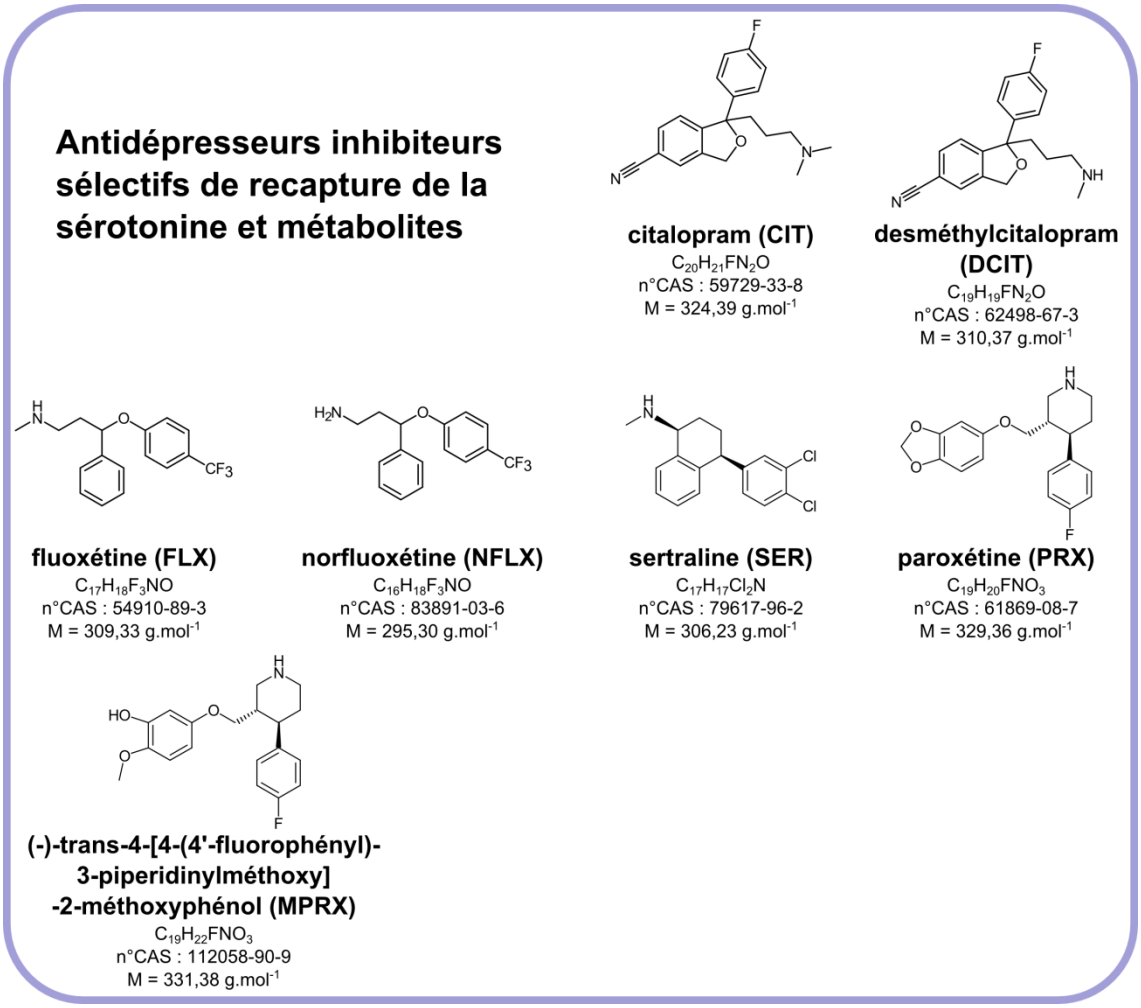


FIGURE 2.7 – Structures des antidépresseurs ISRS et de leurs métabolites sélectionnés

La dépression est une maladie qui se caractérise par un état de tristesse potentiellement accompagné d'une perte d'intérêt, de plaisir, d'une mésestimation de soi, etc. Dans les cas les plus graves la dépression peut amener des idées suicidaires (WHO, 2009). Cette maladie est très courante, la prévalence est estimée à 16% de la population (Nuovo, 2007) et selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), elle sera

en seconde position dans le classement du DALYs[4] pour toutes tranches d'âges d'ici à 2020. Elle l'est déjà aujourd'hui pour les 15-44 ans (WHO, 2009).

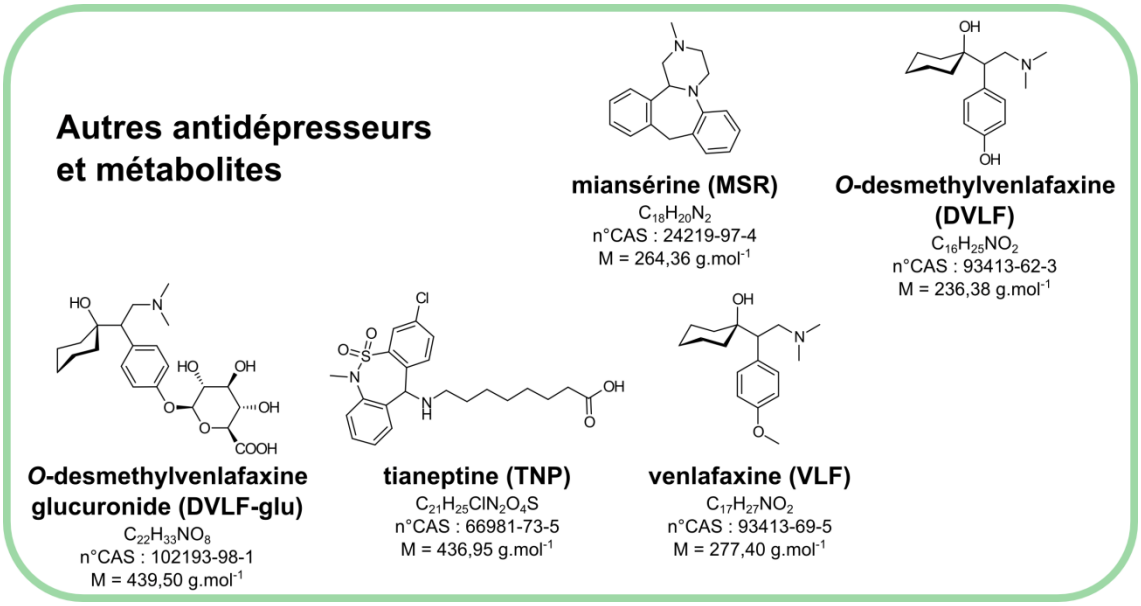


FIGURE 2.8 – Structures des autres antidépresseurs et de leurs métabolites sélectionnés

Les antidépresseurs sont des molécules utilisées afin de relever l'humeur. Comme tous les psychostimulants, ils agissent sur les neurotransmetteurs monoamines impliqués dans la régulation de l'état de vigilance comme la dopamine ou de l'humeur comme la sétonine. Leur action consiste en l'inhibition sélective ou non de la catalyse ou de la recapture des monoamines. Les premières générations d'antidépresseurs agissent par inhibition de la destruction des monoamines : ils sont dit inhibiteurs de la monoamine oxydase ou IMAO (Healy, 2008). Ils ont depuis été complétés par de nouvelles générations d'antidépresseurs présentant des mécanismes d'action différents. Il en existe aujourd'hui plus de vingt différents sur le marché hexagonal. Le classement ATC les distinguent en cinq classes (WHOCC, 2002) :

- les inhibiteurs non sélectifs de la recapture des monoamines (N06AA)
- les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) (N06AB)
- les IMAO sélectif de type A (N06AG)
- les IMAO non-sélectifs (N06AF)
- les *« autres »* n'appartenant à aucune des 4 classes précédentes (N06AX)

La consommation d'antidépresseurs, bien que plus faible que celle des benzodiazépines, demeure importante : 9,7% de la population française protégée par le régime général a bénéficié du remboursement d'un antidépresseur en 2000 (Lecadet et al., 2003). Cette tendance générale est à la hausse puisque la consommation moyenne est passée de 34,6 à 50,4 S-DDD (dose standard journalière définie) de 1998 à 2008 avec tout de même un nivellement sur les dernières années (AFSSAPS, 2010). Au total l'assurance maladie a remboursé plus de 45 millions de boîtes de médicaments antidépresseurs au cours de l'année 2012 (CPAM, 2013). Ces chiffres sont détaillés en TABLEAU 2.1.

[4] Le DALYs = Disability Adjusted Life Years est un indicateur de l'OMS mesurant le nombre d'année en bonne santé ou les années de maladie sont pondérées en fonction de leur gravité et soustraites à la durée de vie escomptée.

Les ISRS arrivent en tête des antidépresseurs les plus consommés. La paroxétine, la fluoxétine et le citalopram (racémique et énantiomériquement pur : escitalopram) se distinguent particulièrement au sein de cette catégorie. En cumulé, ces principes actifs représentent à eux seuls plus de la moitié du volume d'antidépresseurs pris en charge par l'assurance maladie au cours de l'année 2012. Leurs métabolites principaux (le (-)-trans-4-[4-(4'-fluorophenyl)-3-piperidinylmethoxy]-2-methoxyphenol, la norfluoxétine et le desméthylcitalopram) ont également été sélectionnés.

	code ATC	type	quantité (nbre boîtes)
clomipramine	N06AA04	IMA	1 369 816
mirtazapine	N06AX11	autre	1 617 757
duloxétine	N06AX21	autre	1 733 121
citalopram	N06AB04	ISRS	2 009 901
tianeptine	N06AX14	autre	2 123 698
amitriptyline	N06AA09	IMA	2 311 582
miansérine	N06AX03	autre	2 529 649
sertraline	N06AB06	ISRS	2 753 218
fluoxétine	N06AB03	ISRS	5 105 889
venlafaxine	N06AX16	autre	5 547 343
escitalopram[1]	N06AB10	ISRS	7 345 789
paroxétine	N06AB05	ISRS	9 491 668
autres principes actifs (n=14)			1 921 891

IMA = inhibiteurs non sélectifs de la recapture des monoamines
[1] : escitalopram = (S)-citalopram par distinction avec le mélange racémique

TABLEAU 2.1 – Quantité (en nombre de boîtes) d'antidépresseurs remboursés par l'assurance maladie en 2012 (d'après (CPAM, 2013))

Parmi les autres classes d'antidépresseurs la venlafaxine, vendue notamment sous la spécialité effexor®, est également l'un des principes actifs les plus consommés et représentent environ 12% du volume total des traitements remboursés par la CPAM. Son principal métabolite fait également partie de la sélection sous ses formes libre et glucuro-conjuguée.

1.7. Les médicaments contre la démence : anti-Alzheimer

La FIGURE 2.9 présente les structures, formules chimiques, masses moléculaires et numéro CAS des médicaments anti-Alzheimer sélectionnés.

La maladie d'Alzheimer consiste en une neurodégénérescence progressive des tissus cérébraux se déclarant généralement à l'âge sénile ou présénile. Cliniquement, elle se manifeste principalement par des troubles cognitifs évolutifs affectant la perception, la mémoire, la parole, le raisonnement et la coordination des mouvements (Mashkovskii et al., 2001)..

Selon l'OMS, plus de 35 millions de personnes sont atteintes de démence dans le monde et son incidence est de 7,7 millions par an. La maladie d'Alzheimer constitue la cause la plus courante de démence : 60-70% des cas (WHO, 2012). En France, il

était estimé en 2010 que 750 000 à 850 000 personnes étaient atteintes de démence et ce chiffre devrait atteindre 1 800 000 cas en 2050, soit 3% de la population (Berr, 2010).

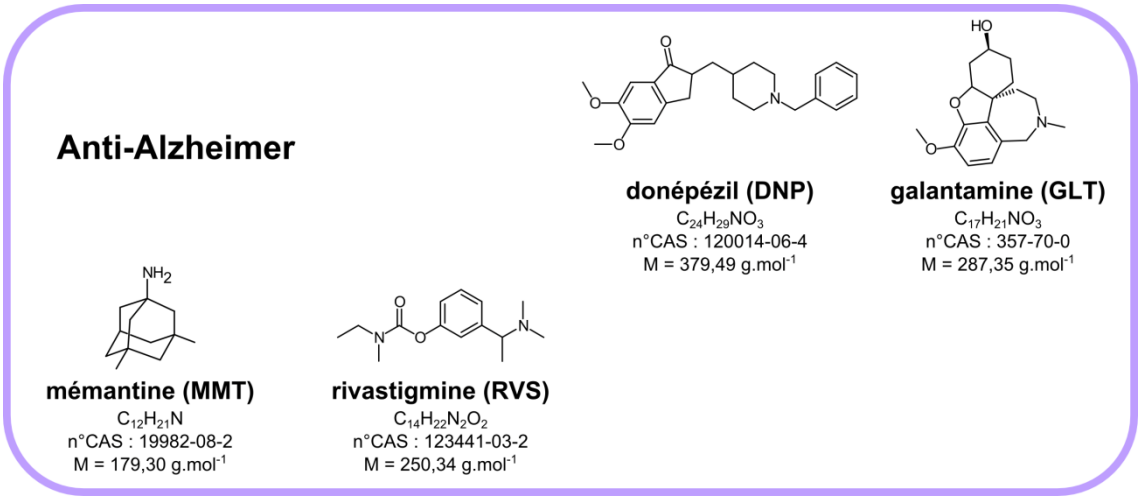


FIGURE 2.9 – Structures des anti-Alzheimer sélectionnés

La maladie d'Alzheimer est toujours considérée comme étant incurable. Les médicaments disponibles sur le marché n'offrent aujourd'hui qu'un traitement symptomatique partiel. Il existe 4 molécules spécifiques indiqués : 3 inhibiteurs de la cholinestérase (donépézil, galantamine, rivastigmine) ainsi qu'un antiglutamate (mémantine) (HAS, 2011a).

En empêchant la dégradation enzymatique de l'acétylcholine dans le cerveau, les inhibiteurs de la cholinestérase favorisent son accumulation et permettent ainsi de maintenir sa fonction médiatrice physiologique (Mashkovskii et al., 2001). L'antiglutamate a quant à lui une fonction protectrice et agit dans le processus de fixation du glutamate qui, en s'accumulant de façon trop importante chez un malade atteint de la maladie, est neurotoxique (Molinuevo et al., 2005). Ces traitements sembleraient avoir un effet positif sur la vie des patients concernés. Toutefois, en 2011, la Haute Autorité de Santé (HAS) les a réévaluée concluant à *« une efficacité versus placebo principalement établie sur la cognition à court terme mais de pertinence clinique discutable »* (HAS, 2011b).

La consommation des médicaments anti-Alzheimer est globalement en augmentation sur la période 1999-2009 passant de 0,8 à 5,8 DDJ bien qu'une légère baisse d'environ 10% ait été constatée dans le nombre de traitement pris en charge par l'assurance maladie entre l'année 2011 et 2012 (CPAM, 2013). Cette baisse pourrait être liée aux recommandations de l'HAS publiées en 2011 laissant à l'appréciation du médecin prescripteur l'instauration ou le renouvellement d'un traitement médicamenteux (HAS, 2011a). Les données publiées à l'heure actuelle ne permettent pas de se prononcer sur la significativité de cette baisse dans le temps.

1.8. Autres médicaments de consommation courante

La FIGURE 2.10 présente leurs structures, formules chimiques, masses moléculaires et numéro CAS.

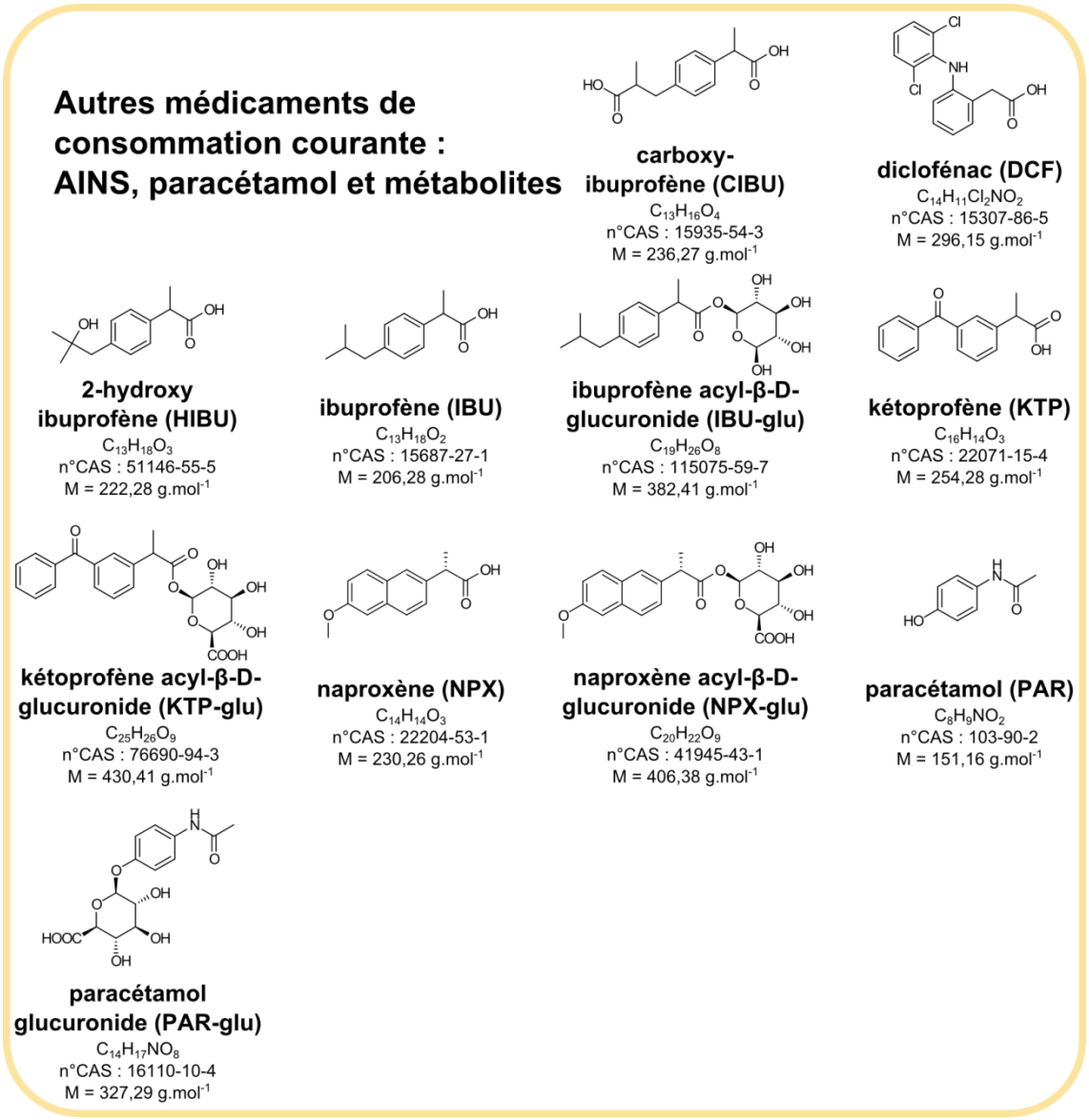


FIGURE 2.10 – Structures des médicaments non psychotropes de consommation courante et de leurs métabolites sélectionnés

Les molécules sélectionnées parmi les médicaments de consommation courante font partie de la classe thérapeutique des analgésiques appelés également antalgiques. Ces médicaments sont utilisés pour traiter la douleur. 4 anti-inflammatoires non-stéroïdiens, 1 analgésique non opioïde et 6 de leurs métabolites (dont 4 sous leur forme conjuguée) ont été sélectionnés.

Le paracétamol (ou acétaminophène) agit dans le système nerveux central en inhibant la synthèse de la prostaglandine, qui joue de nombreux rôles dans l'organisme dont celui de médiation de la douleur et de l'inflammation. Cependant, le paracétamol est un faible inhibiteur de la synthèse de la prostaglandine et ne présente pas de propriétés anti-inflammatoires (McPherson et al., 2011). Par ailleurs, il semblerait que ses effets analgésiques soient également dus à l'activation concomitante des circuits sérotoninergiques descendants de la moëlle épinière (McPherson et al., 2011) résultant en une diminution de la transmission des signaux de la douleur.

Le paracétamol est le premier traitement recommandé pour le traitement des fièvres et des douleurs faibles à modérées et ne nécessite pas d'ordonnance. Ces trois spécialités les plus courantes (Doliprane®, Efferalgan® et Dafalgan®) sont les trois médicaments soumis à prescription médicale facultative les plus vendus en France (ANSM, 2013c). De plus, le paracétamol est également, et de loin, le médicament le plus prescrit et plus de 310 millions de doses ont été remboursées par la CPAM en 2012 (CPAM, 2013). Enfin, le paracétamol peut être pris seul ou en association et est présent dans plus de 150 spécialités différentes sur le marché français. A titre d'exemple, les associations avec la codéine et celles avec le tramadol sont respectivement 2ème et 7ème substances actives les plus vendues en officines (ANSM, 2013c).

Les autres médicaments de consommation courante choisis (ibuprofène, kétoprofène, naproxène et diclofénac) sont tous des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Contrairement au paracétamol, ils présentent une action inhibitrice des enzymes cyclo-oxygenases (COX) responsables de la production de prostaglandine. Cette inhibition forte explique directement leurs effets combinés : analgésique et anti-inflammatoire c'est-à-dire à la fois sur la douleur et sur la réaction immunitaire de l'organisme (Berger et al., 2011). Les AINS sont également très prescrits avec, en 2012, plus de 37 millions de doses prises en charge par l'assurance maladie dont plus de 19 millions pour le seul ibuprofène, également délivrable sans ordonnance (CPAM, 2013).

La forte consommation de ces médicaments, stable dans le temps, en fait de fait de bons indicateurs d'un impact anthropique. De plus, ces molécules ont été largement étudiées et caractérisées dans les milieux aquatiques (Mompelat et al., 2009) et constituent des points de comparaisons intéressants avec les travaux déjà publiés.

Comme cela vient d'être exposé dans les paragraphes précédents, les 68 molécules sélectionnées dans le présent travail présentent une très large gamme de structures. En conséquence, leur analyse dans les milieux requièrt la mise en œuvre de procédures et de méthodes analytiques complexes.

2. Etude bibliographique des techniques utilisées pour l'analyse des composés sélectionnés dans des eaux naturelles

Le processus de mesure d'une quantité de polluant dans une eau naturelle suit une succession d'étapes qui, liées les unes aux autres, constitue une chaîne composée de 4 maillons depuis la prise d'échantillon jusqu'à la détection de l'analyte (FIGURE 2.11). La maîtrise de cette chaîne continue est déterminante quant à la portée des conclusions issues de ce processus. Cela implique la connaissance du comportement des analytes au cours de chacune des étapes.

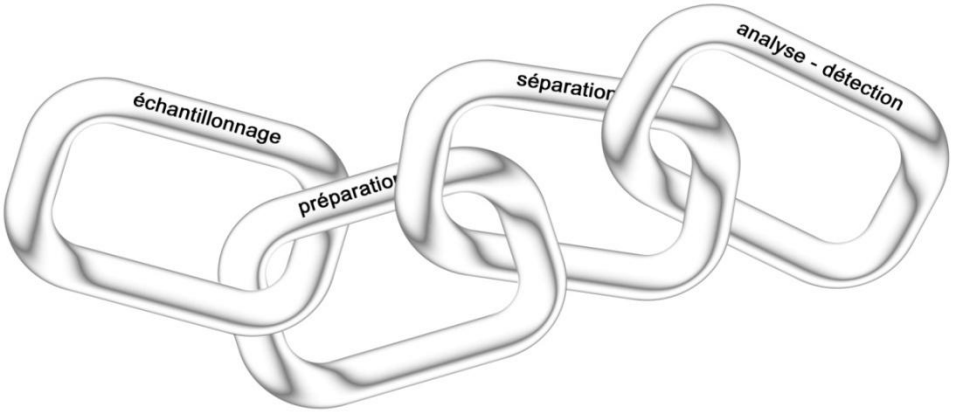


FIGURE 2.11 – La chaîne de l'analyse chimique.

Dans un premier temps, les principales techniques d'extraction, de séparation, d'analyse et de détection mises en œuvre pour la caractérisation des composés psychotropes et des médicaments de consommation courante sélectionnés dans les matrices aqueuses environnementales seront présentées. Puis, dans un second temps, les performances des méthodes seront discutées. Les aspects liés à l'échantillonnage, à la stabilité et à l'intégrité des composés précédant l'étape de préparation seront quant à eux détaillés dans le chapitre 3 de ce manuscrit.

2.1. Préparation de l'échantillon

L'étape de préparation de l'échantillon consiste à rendre possible l'analyse d'un volume important de matrice environnementale contenant une faible quantité de polluants. Pour se faire il convient de réduire considérablement le volume dans lequel les analytes sont solubilisés afin d'y augmenter leur concentration et de les rendre détectables et quantifiables par le module d'analyse.

2.1.1. Extraction en phase solide (SPE)

L'extraction en phase solide (SPE) repose sur la migration des composés de la matrice échantillonnée vers la phase d'extraction. Les analytes sont ensuite élués par un petit volume de solvant. En SPE, le facteur de concentration est fonction de deux facteurs : le volume d'échantillon percolé et la capacité réceptrice la phase (Pichon, 2006). En effet, si la rétention sur le support d'extraction est insuffisante, il y a un

risque d'éluer des composés par le solvant constituant la matrice de départ. Ce volume maximal percolable n'induisant pas l'élution des analytes est appelé volume de fuite ou volume de fin de fixation. Enfin, et de façon évidente, le volume de phase extractrice doit être suffisant pour ne pas être saturé. La SPE permet de traiter des volumes importants d'échantillons offrant ainsi la possibilité d'atteindre des facteurs de reconcentration suffisants pour l'analyse de composés initialement présents dans des concentrations de l'ordre du $ng.L^{-1}$. De plus, cette technique n'utilise que de faibles quantités de solvants organiques et il existe un large choix de phases extractrices offrant la possibilité d'extraire spécifiquement de nombreux composés. Enfin, la SPE est entièrement automatisable (SPE en ligne). Tous ces éléments expliquent sa place comme méthode de choix pour la préparation d'échantillons issus de matrices environnementales aqueuses et des limites de quantifications de l'ordre du $ng.L^{-1}$ peuvent être obtenues (paragraphe 2.4).

Certains systèmes autorisent l'intégration de la SPE en ligne avec le module analytique. En outre, la SPE en ligne permet de s'affranchir de l'étape d'évaporation puisque l'éluât est injecté directement. Les volumes de solvants et d'échantillons utilisés sont également considérablement réduits. Les méthodes rapportant l'utilisation de la SPE en ligne pour l'analyse de certains des composés sélectionnés utilisent des prises d'échantillons allant de 1 mL (Idder et al., 2013) à 5 mL (Postigo et al., 2008; Valcárcel et al., 2012). La principale limitation de ces méthodes entièrement automatisées réside dans le fait que, en raison d'un facteur de concentration plus faible, les limites de détections peuvent être plus élevées (Trenholm et al., 2009).

Le TABLEAU 2.2 présente une synthèse bibliographique des types de phases extractrices utilisées dans 62 publications mettant en œuvre la SPE pour l'étude des composés sélectionnés dans ce travail en eaux de surface et en STEP. L'ANNEXE 2.3 décrit en détail chacune d'entre elles. L'utilisation de SPE en ligne demeure néanmoins peu répandue (3/62 publications).

phase extractrice (marque)	nombre de références	fréquence
HLB (Waters®)	35	56%
MCX (Waters®)	15	24%
Strata SCX (Phenomenex®)	2	3%
Strata XC (Phenomenex®)	1	2%
PLRP-s (Spark®)	2	3%
ENVI-18 (Supelco)	1	2%
RP-C18 (Phenomenex®)	1[a]	2%
Polar Plus C18 (Baker®)	1	2%
RP-C8 (non communiquée)	1	2%
Supelclean LC-18 (Supelco®)	1	2%
Isolute C18 (Biotage®)	2	3%
Poursuit C18 (Agilent®)	1	2%
Strata X (Phenomenex®)	1	2%
Hypersil Gold C18 (Thermo Fisher®)	1	2%
Bond Elut ENV (Agilent®)	1	2%
total	62	

TABLEAU 2.2 – Phases utilisées parmi 62 publications mettant en œuvre la SPE pour l'extraction de certains composés sélectionnés dans les eaux naturelles

Plus de la moitié des études citées rapporte l'utilisation de la phase Oasis® HLB (Waters). Le succès de ce type de support s'explique par un bon compromis de

sélectivité. En effet, grâce à son greffon N-Vinylpyrrolidone-DVB qui, comme son nom l'indique, présente un site hydrophile (N-Vinylpyrrolidone) et un site hydrophobe (DiVinylBenzène) ce support polymérique met en jeu des mécanismes de rétentions propices à ces deux types d'intéractions. Il existe des alternatives équivalentes aux cartouches HLB proposées par d'autres fournisseurs : Strata® X (Phenomenex), Isolute® HXC (Biotage), HyperSep® Retain PEP (Thermo) par exemple.

Les phases polymériques mixtes sont également couramment utilisées. La phase Oasis® MCX (Waters) arrive en seconde position dans les supports les plus utilisés dans la littérature (24% des publications citées). Il s'agit du même greffon que la phase HLB à la différence près que l'un des cycles benzéniques est substitué par un groupement acide sulfonique qui a pour effet de créer des interactions électrostatiques avec les analytes basiques en plus des interactions hydrophiles et hydrophobes. L'utilisation de ce type de greffon autorise donc une plus grande sélectivité vis-à-vis des composés basiques. L'étape de conditionnement induit le passage d'une eau acidifiée afin de maximiser les interactions avec les groupements sulfonates. L'étape d'élution comprend le passage d'une solution d'hydroxyde d'ammonium pour « décrocher » les composés basiques liés à la phase. D'autres fournisseurs proposent des phases équivalentes à l'Oasis MCX : Strata® XC (Phenomenex), Isolute® HCX-Q (Biotage), HyperSep® Retain-CX (Thermo) par exemple.

2.1.2. Micro-Extraction en Phase Solide (SPME)

La SPME (Solid Phase Micro-Extraction) est une technique d'extraction dans laquelle une fibre est plongée dans l'échantillon à analyser. Cette fibre est recouverte d'une phase adsorbante sur laquelle migrent les analytes. Des méthodes pour la caractérisation de certains des composées sélectionnées dans les eaux résiduaires ont été développées. Des limites de quantification comprises entre 12 et 40 $ng.L^{-1}$ ont été obtenues pour 5 AINS (Rodríguez et al., 2004) et entre 1,4 et 6,8 $ng.L^{-1}$ pour 5 amphétaminiques (Racamonde et al., 2013).

2.1.3. Micro-Extraction en Phase Liquide (LPME)

La Micro-Extraction en Phase Liquide (LPME) est une technique d'extraction liquide-liquide dans laquelle une microgoutte de solvant organique, maintenue au bout d'une seringue, est immergée dans le mélange à extraire. Cette gouttelette est ensuite directement injectée dans le module d'analyse. En 2008, Vasskog *et al.* ont appliqué la HF-LPME (Hollow Fiber LPME) pour l'analyse d'antidépresseurs inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine et de leurs métabolites dans des eaux de surface et d'épuration. Ce mode fait intervenir une fibre organique microporeuse entre la microgoutte et la matrice aqueuse à extraire. Les limites de quantification rapportées par les auteurs dans de l'eau du robinet varient entre 57 $pg.L^{-1}$ pour le citalopram jusqu'à 4,1$ng.L^{-1}$ pour la desméthylsertraline (Vasskog et al., 2008). Cette méthode automatisable permet, en outre, de réduire considérablement à la fois les volumes d'échantillons et les volumes de solvants organiques.

2.1.4. Extraction par Polymères à Empreintes Moléculaires (MIP)

Les MIP (*Moleculary Imprinted Polymers*) sont des polymères synthétiques comportant des sites de reconnaissance spécifiques complémentaires en termes de structure, de taille et de fonctions chimiques. En conséquence, leur grande sélectivité ne permet pas d'envisager leur utilisation dans le cadre d'une méthode multi-résidus comprenant des classes de molécules hétérogènes. Les MIP peuvent néanmoins

constituer une alternative intéressante aux approches SPE classiques dans des méthodes spécifiques. A titre d'exemple, Gonzales-Marino *et al.* ont effectué une comparaison Oasis® MCX vs. MIP pour l'analyse de 5 amphétamines dans des eaux résiduaires (González-Mariño et al., 2009). Les auteurs ont rapporté que l'utilisation de MIP permettait d'obtenir des extraits plus propres et de réduire les effets matriciels améliorant ainsi les performances de la méthode pour certains analytes.

2.1.5. Extraction Sorption sur barreau aimanté (SBSE)

La SBSE (*Stir Bar Sorptive Extraction*) est une technique permettant l'extraction et la préconcentration des molécules en matrice complexe. Pour ce faire, un barreau aimanté recouvert d'une phase extractrice est directement immergé dans l'échantillon et placé dans un champ magnétique afin d'assurer l'agitation. Pendant des années, la seule phase disponible était composée de polydiméthylsiloxane (PDMS) limitant l'application de cette technique aux seuls composés apolaires (Gilart et al., 2014). Des développements ont conduit à l'élaboration de nouvelles phases rendant possible l'extraction de molécules plus polaires (Gilart et al., 2013). Quitana *et al.* ont développé une méthode multi-résidus pour l'analyse de 46 molécules dont les log K_{ow} sont compris entre 0,16 et 5,66 dans des eaux de résiduaires, de surface et souterraines. Parmi ces composés figuraient notamment l'ibuprofène, le naproxène, le kétoprofène, le diclofénac, ainsi que la carbamazépine. Les limites de détection obtenues pour ces composés allaient de 13 à 88 $ng.L^{-1}$ (Quintana et al., 2007). Néanmoins, ces composés présentent tous des log K_{ow} supérieur à 2. Aussi, pour des composés plus polaires les rendement d'extraction étaient inférieurs à 1% (Quintana et al., 2007).

2.1.6. Injection directe

Certains auteurs ont expérimenté des méthodes analytiques dans lesquelles l'étape de préparation est évitée grâce à l'injection d'un volume plus important d'échantillon. En 2008, Chia *et al.* ont analysé 23 molécules dont des substances illicites dans des eaux de station d'épuration en injectant 1,8 mL d'échantillon (Chiaia et al., 2008). Plus récemment, Berset *et al.* ont décrit une méthode avec un volume d'injection de 100 µL ayant permis d'atteindre des limites de quantification de l'ordre de $20ng.L^{-1}$ pour la morphine, la codéine la MDMA, la cocaïne, la benzoylecgonine, l'EDDP dans des eaux d'épuration. Dans les eaux de surface, les limites des quantification étaient de l'ordre de 1 $ng.L^{-1}$ pour la codéine et de 0,2 $ng.L^{-1}$ pour les autres composés. Toutefois, dans ces conditions, les auteurs n'ont pas été en mesure de déterminer la limite de quantification pour la morphine (Berset et al., 2010).

2.1.7. Purification

L'absence de mise en œuvre de protocole de purification de l'échantillon, bien que ces molécules soient présentes à l'état ultra-traces au sein de matrices complexes, est également remarquable et n'est pas sans conséquence si la problématique des effets matriciels est prise en compte. Ce phénomène est susceptible d'affecter de manière très significative les performances des méthodes d'analyses chimiques et en conséquence d'affecter l'exactitude des mesurages. Néanmoins, une méthode spécifique aux antidépresseurs ISRS rapporte le recours à une extraction liquide-liquide d'un éluat de SPE afin de réduire les effets matriciels et d'augmenter la sensibilité (Vasskog et al., 2006). L'étape de purification, a permis aux auteurs d'obtenir des limites de quantification comprises entre 0,12 et 0,29 $ng.L^{-1}$.

2.1.8. Evaporation

L'extraction de matrices environnementales aqueuses par SPE est systématiquement suivie d'une étape d'évaporation. Celle-ci a deux objectifs principaux. Le premier est de concentrer l'éluât (dont le volume est typiquement de 3 à 10 mL). Le second est de conditionner l'échantillon à injecter dans un solvant ou un mélange de solvants compatible avec son analyse ultérieure. Dans le cas d'une séparation par chromatographie liquide, l'échantillon est typiquement reconstitué à une composition identique ou proche de celle du début de gradient. Bien que systématique, l'étape d'évaporation suivant la SPE n'est pas souvent précisément décrite et presque jamais caractérisée en terme de rendement. La technique la plus fréquemment utilisée consiste à évaporer l'échantillon sous flux d'azote. Aussi la formule consacrée *« evaporated under a gentle nitrogen stream »* constitue dans bien des cas la seule mention de cette étape (Castiglioni et al., 2005; González-Mariño et al., 2009; Grabic et al., 2012; Gros et al., 2012; Karolak et al., 2010; Nefau et al., 2013; Petrović et al., 2014; Togola et al., 2008a). La température est également parfois reportée (Baker et al., 2011a; Bisceglia et al., 2010; Boleda et al., 2007; Huerta-Fontela et al., 2010). L'étape d'évaporation est pourtant susceptible d'avoir des répercussions sur le processus analytique global (Baker et al., 2011b). A titre d'exemple, Clauwert *et al.* ont constaté, lors de l'évaporation, jusqu'à 50% de perte de la MDA et la MDMA à 35°C dans un mélange héxane-acétate d'éthyle (Clauwaert et al., 2000). Ainsi, comme l'ont souligné Baker *et al.* dans une revue critique des méthodes utilisées dans l'échantillonnage, le stockage, et la préparation des échantillons pour l'analyse des résidus pharmaceutiques et substances illicites dans les eaux de surface et de stations d'épuration, il un réel enjeux caractériser les rendements de l'étape d'évaporation (Baker et al., 2011b). Pour l'heure, dans la plupart des travaux publiés, celle-ci est incluse dans l'évaluation des rendements SPE.

2.2. Analyse : séparation et détection

Plusieurs techniques permettent l'analyse de mélanges environnementaux complexes. Pour la détermination de médicaments dans l'eau, la séparation est couramment assurée par un système de chromatographie en phase liquide ou en phase gazeuse auquel est associé un spectromètre de masse.

2.2.1. Couplage de chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS)

La chromatographie en phase gazeuse (GC) offre une grande résolution chromatographique et un grand domaine dynamique. De plus, il existe un large choix de phases stationnaires et la possibilité de couplage avec la spectrométrie de masse avec ionisation par impact électronique (EI) lui confère une grande robustesse. Ainsi, l'utilisation de cette technique s'avère particulièrement intéressante dans le cas de composés ne se fragmentant pas ou peu. En revanche, l'applicabilité de la technique aux seules molécules volatiles (ou dérivées) et thermiquement stables constitue ses principales limites. De fait, la GC se destine plutôt à séparer des composés non ou faiblement polaires. Cela est problématique pour certains des composés sélectionnés. Néanmoins, la GC est notamment utilisée pour l'analyse d'antidépresseurs et d'anxiolytiques dans des échantillons environnementaux. Des méthodes ont rapporté l'utilisation de la GC-MS pour la détermination simultanée en matrice aqueuse de plusieurs médicaments comme la carbamazépine, le diazépam, le nordazépam, l'oxazepam, l'acétaminophène et des AINS (Bendz et al., 2005; Heberer et al., 2005;

Kosjek et al., 2012; Koutsouba et al., 2003; Metcalfe et al., 2003; Stumpf et al., 1999; Tauxe-Wuersch et al., 2005; Togola et al., 2008a) (voir TABLEAU 2.3).

2.2.2. Couplage de chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS)

Séparation

Le TABLEAU 2.3 présente une synthèse bibliographique des types de phases stationnaires utilisées dans 54 publications ayant recours à la chromatographie en phase liquide pour l'étude des composés sélectionnés dans ce travail en eaux de surface et en STEP. L'ANNEXE 2.2 en décrit une synthèse.

colonne (marque)	type de phase	nbre de références	fréquence
Ace 3 C18 (ACT®)	alkylsilane	1	2%
Acquity BEH C18 (Waters®)	alkylsilane [1]	15	28%
Acquity HSS T3(Waters®)	chaîne alkyle trifonctionnalisée[2]	4	8%
Chirobiotic V (ACT®)	antibiotique macrocyclique	1	2%
Eclipse XDB-Phenyl (Agilent®)	organo phénylsilane	2	4%
Gemini C18 (Phenomenex®)	alkylsilane	2	4%
Halo C18 (Adv.Materials Tech.®)	alkylsilane	1	2%
Hydro RP (Phenomenex®)	alkylsilane[3]	1	2%
Hypersil GOLD C18 (Thermo®)	alkylsilane	2	4%
Hypersil GOLD aQ (Thermo®)	alkylsilane[3]	2	4%
LiChrospher RP-18 (Merck®)	alkylsilane	2	4%
Luna HILIC (Phenomenex®)	polymère réticulé substitué par des diols	2	4%
Metasil Basic C8 (Metachem Tech. ®)	alkylsilane[3]	1	2%
Purospher Star RP18 (Merck®)	alkylsilane	6	11%
Synergi Polar RP (Phenomenex®)	éthers phénoliques (Si(CH2)nOPh)[3]	2	2%
Ultra IBD (Restek®)	alkylsilane substitué par un gpe polaire[4]	1	2%
Viva PFPP (Restek®)	pentafluorophenyl-propyl	1	2%
XBridge C18 (Waters®)	alkylsilane [1]	2	4%
Xbridge Phenyl (Waters®)	alkysilane substitué par un gpe phényl	2	4%
Xterra MS C18 (Waters®)	alkylsilane [5]	3	6%
Zorbax Extend-C18(Agilent®)	alkylsilane	2	4%
Zorbax SB-C18(Agilent®)	alkylsilane	1	2%
Zorbax Rx-SIL-HILIC (Agilent®)	silice	2	4%
total		54	

[1] : gréffé sur particule hybride à ponts éthanes ; [2] : greffée sur ligand favorisant les interactions polaires ; [3] : avec endcapping polaire ; [4] : sans endcapping ; [5] : greffé sur particule hybride partiellement endcappée ;

TABLEAU 2.3 – Phases utilisées parmi 54 publications mettant en œuvre la SPE pour la séparation de certains composés sélectionnés

La chromatographie en phase liquide (LC) en phase inverse (RP) est la technique séparative la plus répandue dans les analyses environnementales (plus de 90% des publications citées). La phase stationnaire C18 est de loin la plus utilisée (plus de 80% des publications citées), elle peut être greffée sur des particules hybrides ou de silices qui ont toutes subi, sauf mention contraire, un traitement terminal (endcapping) afin d'empêcher les interactions avec les silanols résiduels source d'asymétrie dans les pics et de perte d'efficacité. Ces phases génériques présentent une grande efficacité pour un grand nombre de composés. Toutefois, des modifications

permettent d'apporter une plus grande sélectivité de la phase envers certains analytes. Des traitements finaux avec des groupes polaires, en lieu et place de la saturation habituelle par des triméthylsililes, autorise plus d'interactions avec les composés polaires en augmentant la mouillabilité de la phase. La fonctionnalisation de la chaîne alkyle par des groupements polaires offre également une plus grande sélectivité vis à vis des analytes polaires. Enfin certaines substitutions modifient le mécanisme de rétention par interactions hydrophobes des phases alkylsilanes. Les groupements phényles favorisent les interactions π-π avec les composés aromatiques ou insaturés et les phases fluorées, en mettant en jeu des interactions électrostatiques et dipolaires qui sont très sélectives vis à vis des analytes basiques, azotés et halogénés. Grâce à un important choix de greffons de phase stationnaire, la LC s'adresse à une large gamme d'analytes, y compris les composés thermolabiles, polaires ou à haut poids moléculaire. Cela constitue l'avantage principal de cette technique. En revanche, son efficacité chromatographique est plus faible que la GC. Ce désavantage a été compensé par le développement des techniques de chromatographie liquide à très haute pression utilisant des colonnes courtes et dont le diamètre des particules de la phase stationnaire est très faible (classiquement 1,7 µm). S'en suit une amélioration de l'efficacité chromatographique, et une diminution importante du temps d'analyse.

La chromatographie liquide d'interaction hydrophile (HILIC) est ce qui pourrait être appelé « *une chromatographie en phase inverse inversée* » c'est à dire que les phases stationnaires sont polaires tandis que les phases mobiles utilisées sont constituées d'un mélange d'eau tamponnée et de solvant organique dont les gradients sont opposés à ceux utilisés en phase inverse (l'augmentation de la proportion organique augmente la rétention). Les phases stationnaires HILIC offrent une alternative à séparation des composés polaires, la faible proportion aqueuse de la phase mobile forme une couche d'hydratation le long de la phase stationnaire où les interactions avec les analytes y sont favorisées. Ce mode chromatographique a notamment été utilisé par Gheorghe *et al.* pour la caractérisation de la cocaïne et de ses métabolites dans les eaux de surface (Gheorghe et al., 2008). Van Nuijs *et al.* ont par la suite généralisé son utilisation aux autres substances illicites et leurs métabolites (van Nuijs et al., 2009b).

La chromatographie chirale permet de séparer les énantiomères d'une molécule. Dans l'environnement, de nombreux résidus médicamenteux ou de substances illicites sont chiraux. Malgré des propriétés physico-chimique similaires, la différence dans la configuration spatiale peut conduire à des interactions différenciées des énantiomères avec les récepteurs des organismes exposés et donc produire une réponse biologique différente (Ribeiro et al., 2012). Afin de répondre au besoin de caractérisation de la fraction énantiomérique présente dans les matrices environnementales, plusieurs méthodes ont été développées notamment pour certains antidépresseurs ISRS, amphétamines et AINS (Bagnall et al., 2012; Barclay et al., 2012; López-Serna et al., 2013; MacLeod et al., 2007a). L'analyse chirale de l'ibuprofène et de la fluoxétine dans des eaux de surfaces et de stations d'épuration au sud de l'Espagne a mis en évidence que le premier était présent sous la forme d'un mélange racémique et que le second était principalement sous sa forme (S) (López-Serna et al., 2013). Des résultats similaires ont été constatés dans des eaux de stations d'épuration suédoises (Barclay et al., 2012). Mac Leod *et al.* ont rapporté quant à eux un enrichissement énantiomérique en faveur de la forme (R) (MacLeod et al., 2007a). Il a par ailleurs été démontré que la (S)-fluoxétine est plus toxique pour le poisson *Pimepales promelas* que la (R)-fluoxétine (Stanley et al., 2007).

Sources d'ionisation

L'ionisation par électro-spray (ESI) est une méthode douce permettant de générer à pression atmosphérique des molécules chargées en phase gazeuse à partir de composés en phase condensée. Cette technique autorise l'ionisation des molécules polaires, non volatiles et thermolabiles ce qui en fait la méthode de choix en LC-MS. Il est par ailleurs possible de faire varier le potentiel appliqué au capillaire et même de l'inverser, ainsi l'application d'une tension positive permettre de former des entités chargées positivement (ESI+) tandis qu'une tension négative conduira à la production d'entités chargées négativement (ESI-).

Toutefois, ce procédé présente un inconvénient majeur : la présence d'électrolytes secondaires peut diminuer voire supprimer la réponse de l'analyte. Lorsque que la concentration en électrolytes secondaires dans le mélange varie, le phénomène d'extinction de signal peut conduire à changer artificiellement l'intensité de la réponse d'un analyte à concentration constante. Le phénomène inverse, l'amplification du signal, peut également survenir. La nature versatile des compétitions à l'ionisation constitue, de fait, une difficulté importante rencontrée dans les analyses en LC-MS. Par ailleurs cet aspect est directement lié à la nature de la matrice considérée. Aussi, ces effets peuvent rendre difficiles les analyses quantitatives dans certaines eaux naturelles. Les moyens mis en œuvre pour limiter les effets matriciels seront présentés au paragraphe 2.3.

L'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) est une autre technique d'ionisation douce qui autorise les couplages entre la LC et la MS. En outre, celle-ci est moins affectée par les effets matriciels que l'ESI. Chu et Metcalfe ont par exemple adopté cette technique pour le développement d'une méthode d'analyse d'inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine dans des tissus biologiques (Chu et al., 2007). Le désavantage majeur de l'APCI est qu'il ne permet pas l'analyse de composés thermolabiles.

Analyseurs de masse

La spectrométrie de masse est un outil fondamental et historique de la compréhension des phénomènes de pollutions environnementales. Pour l'analyse des polluants émergents, elle est essentielle à l'obtention de données à tous les niveaux : sources, efficacité des traitements d'épuration, devenir dans l'environnement, effets sur organismes non cibles, etc… (Daughton, 2001). En particulier, les couplages chromatographiques avec la spectrométrie de masse en tandem (MS-MS) offrent la possibilité de séparer des composés en fonction de leur masse au sein d'un mélange. Ainsi, l'utilisation de la MS-MS a permis de faire face à la complexité des échantillons et aux pics chromatographiques non résolus. C'est principalement pour cette raison que les analyses environnementales font largement appel à différents types de montages qui présentent chacun leur intérêt.

La TABLEAU 2.4 présente les différents types d'analyseurs utilisés parmi 62 publications caractérisant les substances psychotropes, et des médicaments de consommation courante sélectionnés dans les eaux de surface et de stations d'épuration. Les publications citées sont détaillées en ANNEXE 2.3.

séparation	source	analyseur	mode	nombre de références	fréquence
GC	EI	MS (Q)	SIM	5	8%
GC	EI	MS (Q)	Scan	2[a]	3%
GC	EI	MS (IT)	SIM	1	2%
LC	ESI	MS (Q)	SIM	1	2%
LC	APCI	MS-MS(tQ)	MRM	1	2%
LC	ESI	MS-MS(tQ)	MRM	41[a]	66%
LC	APCI	MS-MS(tQ-IT)	MRM	1	2%
LC	ESI	MS-MS(tQ-IT)	MRM	12	19%
		total		62	

TABLEAU 2.4 – Types d'analyseurs de masses utilisés parmi 62 publications caractérisant les substances psychotropes, et les autres médicaments de consommation courante sélectionnés dans les eaux de surface et de stations d'épuration.

Le triple quadripôle (tQ ou QqQ) est le spectromètre en tandem le plus communément répandu dans les laboratoires (près de 70% des publications citées). Plusieurs modes d'utilisation sont envisageables sur ce type d'analyseur. Les modes SRM (Single Reaction Monitoring) ou MRM (Multi Reaction Monitoring) consitent à suivre la réaction de transition d'un ion parent vers un ou plusieurs ion(s) fils. Ainsi le premier quadripôle (Q1) permet la sélection des molécules ionisées en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). Conduit à travers le champ quadripolaire, celui-ci arrive dans la chambre de collision (q) où il est fragmenté. Puis le Q3 permet de sélectionner les fragments selon leurs m/z. Les fragments choisis sont ainsi acheminés vers le détecteur. Ce processus d'analyse permet d'apporter sélectivité et sensibilité. En effet le choix d'une transition spécifique autorise une meilleure identification de l'analyte, et ce, même en résolution unitaire. L'ajout de transition(s) supplémentaire(s) apporte(nt) les éléments complémentaires pour une identification plus formelle de l'analyte. De plus, cette double sélectivité au niveau des Q1 et Q3 conduit à une diminution très importante du bruit de fond, et donc à un gain en sensibilité. Cela est particulièrement appréciable pour l'analyse de composés en faibles concentrations dans des matrices complexes.

Le tQ-IT (quadripôle – ion trap) est un spectromètre en tandem hybride dans lequel le Q1 et q2 sont des quadripôles classiques et le Q3 un piège ionique quadripolaire. Ce dernier présente l'avantage de pouvoir être utilisé comme un quadripôle simple et ainsi de conserver les modes de fonctionnement de la tQ-MS-MS ou d'être utilisé comme une trappe d'ions en apportant des informations structurales sur les analytes. Ce mode est d'ailleurs intéressant pour confirmer l'identification d'un analyte qui se fragmente peu ou qui ne présente qu'une seule transition. Dans ce but plusieurs auteurs utilisent des expériences dites IDA (Information Dependant Acquisition) qui permettent d'acquérir des spectres MS-MS en temps réel durant un run et donc l'accès à une information de MS^3 (Gros et al., 2009, 2010; Huerta-Fontela et al., 2010). Avec un volume représentant 20% des publications citées en TABLEAU 2.4 il s'agit de la seconde technique la plus courante.

Le Q-Tof (quadripôle – temps de vol) est un spectromètre en tandem autorisant la mesure de masse exacte en combinant les avantages de sélectivité de l'analyseur quadripolaire et de résolution (masse exacte) et sensibilité de l'analyseur à temps de vol. Le Q-Tof se développe dans le domaine environnemental pour l'identification de nouveaux produits de dégradation ou de transformation (Calisto et al., 2011; Kosjek et al., 2012; Petrovic et al., 2007) et ainsi que pour le développement de méthodes de screening non-ciblés (Terzic et al., 2011). Toutefois, en l'absence de bases de

données et au regard de la complexité des spectres générés, de telles méthodes reviennent parfois à faire une « analyse non-ciblée sur les analytes connus ».

L'utilisation d'autres techniques pour l'analyse et la détection des composés étudiés dans les matrices environnementales est très rare. Cela étant dit, lorsque les objectifs de la méthode le permettent des alternatives à la spectrométrie de masse peuvent être envisagées. Patrolecco *et al.* ont par exemple récemment proposé une méthode pour la caractérisation de composés pharmaceutiques dans différents types d'eaux par spectrofluorimétrie UV (Patrolecco et al., 2013). Les limites de quantifications obtenues pour la carbamazépine, le kétoprofène, le naproxène, l'ibuprofène et le diclofénac allaient de 60 à 190 $ng.L^{-1}$ dans les effluents de stations d'épuration et 50 à 100 $ng.L^{-1}$ dans les eaux de surface. Les limites de quantification sont certes élevées mais restent satisfaisantes dans le sens où elles correspondent aux attentes des auteurs qui souhaitaient développer une méthode de routine pour l'analyse de d'eau polluée (Patrolecco et al., 2013).

2.3. Les effets matrices

L'effet matriciel est défini par l'IUPAC (Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée) comme étant les *« effets combinés de l'ensemble des composants de l'échantillon autres que l'analyte sur la mesure de la quantité »* alors *« si une composante spécifique peut être identifiée comme responsable de l'effet observé elle est désignée comme interférent »* (IUPAC).

Comme il l'a été décrit dans le paragraphe 2.2.2, les composantes de la matrice sont susceptibles de diminuer voire supprimer la réponse de l'analyte ou à l'inverse d'amplifier le signal. Les effets matriciels posent donc un problème quant aux performances des méthodes de mesure ; notions de faux positifs/faux négatifs et exactitude des résultats de mesures.

Toutes les eaux ne comportent pas toutes la même complexité et la même charge matricielle. Aussi des effets matriciels plus importants sont généralement observés dans des eaux résiduaires d'intrant par rapport aux effluents qui, eux mêmes, présentent des effets plus importants que ceux observés dans les eaux de surface (Gros et al., 2012; Martínez Bueno et al., 2011). De plus, tous les composés ne subissent pas ces effets de la même façon. En ce sens, la séparation chromatographique est déterminante. Martinez-Bueno *et al.* ont par exemple observé une diminution des effets de matrice avec l'augmentation des temps de rétention dans une méthode multi-résidus pour l'analyse de résidus médicamenteux et de substances illicites dans différents types d'eau (Martínez Bueno et al., 2011).

Plusieurs solutions ont été proposées pour minimiser ces effets matriciels. La dilution des extraits constitue un moyen de limiter la compétition à l'ionisation (Gómez et al., 2006; Gros et al., 2006). La purification des échantillons va également en ce sens. Cette solution est notamment proposée par Vasskog *et al.* qui procèdent à une extraction liquide-liquide de l'éluât SPE (Vasskog et al., 2006). Cette solution a montré son efficacité pour la caractérisation de 5 antidépresseurs ISRS dans des eaux résiduaires. Celle-ci semble difficile à mettre en œuvre dans le cadre d'une méthode multi-résidus dans laquelle les propriétés physico-chimiques des analytes sont parfois très différentes.

L'introduction d'une quantité d'étalons internes marqués caractérisés par des propriétés physico-chimiques et un temps de rétention proches de l'analyte à quantifier (son analogue marqué dans l'idéal) peut permettre d'apporter une correction des effets matriciels. L'intérêt de la dilution isotopique (DI) pour l'analyse de certains des composés étudiés a déjà été démontré dans la littérature. Bijlsma *et al.* rapportent par exemple que la MDMA, la cocaïne et la benzoylecgonine subissent toutes une extinction de signal à l'ionisation dans les eaux de surface et les eaux usées. L'introduction de composés analogues deutérés comme étalons internes a permis de corriger efficacement ces effets matriciels (Bijlsma et al., 2009). Sur les mêmes composés ainsi que sur la méthadone et l'EDDP, Castiglioni *et al.* ont estimé que la DI permettait de corriger des effets matriciels provoquant une extinction de l'ordre de 20 à 30% du signal dans les eaux usées (Castiglioni et al., 2008). En 2006, Vanderford *et al.* ont également fait des observations similaires en constatant que la DI compensait la suppression de signal pour la fluoxétine et la carbamazépine dans cinq types de matrices différentes d'eaux potable, de surface et usées (Vanderford et al., 2006).

2.4. Performances de méthodes existantes pour la caractérisation de résidus de psychotropes, paracétamol et AINS dans des eaux résiduaires, de surface et de boisson

Le TABLEAU 2.5 présente une synthèse bibliographique des performances pour une sélection de méthodes décrites dans la littérature pour caractériser certains des analytes étudiés dans différents types d'eaux.

2.4.1. Rendements d'extraction

Les « rendements d'extraction » rapportés dans le TABLEAU 2.5 sont aussi appelés, selon les publications, « rendements SPE », « rendements bruts » ou encore « rendements absolus ». Il s'agit du rapport entre la quantité mesurée dans un échantillon après application de la procédure analytique dans son ensemble sans correction par les étalons internes sur une quantité équivalente dans un échantillon n'ayant pas subi l'étape d'extraction. Les valeurs des rendements d'extraction permettent d'évaluer les performances intrinséques de l'étape de préparation du protocole optimisé.

Les rendements d'extraction pour les publications rapportées dans TABLEAU 2.5 étaient généralement compris entre 70 et 120%. Ces performances ont été obtenues sur différent type de phase (Oasis HLB et MCX principalement) à la fois en SPE *« off line »* (Baker et al., 2011b; Bisceglia et al., 2010; González Alonso et al., 2010; Huerta-Fontela et al., 2010; Togola et al., 2008a) qu'en SPE *« on line »* (Idder et al., 2013; Valcárcel et al., 2012). Deux références font néanmoins état de rendements d'extraction plus faibles (14-59%) dans le cadre de méthodes développées pour la carcatérisation d'opiacés, d'opioïdes et de substances illicites dans les eaux résiduaires (Nefau et al., 2013; Postigo et al., 2008). Les valeurs de ces rendements peuvent s'expliquer par des effets matrices importants. Postigo *et al.* ont par exemple évaluer que ces effets engendraient plus 90% d'extinction de signal pour la benzoylecgonine dans les intrants (Postigo et al., 2008). A l'inverse, Valcarel et al. ont observé un rendement d'extration de 199% pour le lorazépam (Valcárcel et al., 2012).

2.4.2. Rendements de quantification

Les « rendements de quantification » rapportés dans le TABLEAU 2.5 sont aussi appelés, selon les publications, « rendements», « rendements relatifs » ou encore « justesse ». Il s'agit du rapport entre la quantité mesurée et la quantité thérorique présente dans l'échantillon après application de la procédure analytique dans son ensemble et corrections par les étalons internes. Les valeurs des rendements d'extraction permettent d'évaluer les performances quantitatives de la méthode. Leur association avec la dispersion observée permet de rendre compte de « l'exactitude » de la méthode.

Dans le cas des publications citées dans le TABLEAU 2.5, le terme « exactitude » ne pourrait s'appliquer au sens strict qu'aux méthodes ayant caractérisé la justesse dans des conditions de fidélité intermédiaires (Boleda et al., 2007; Huerta-Fontela et al., 2010; Idder et al., 2013). Dans ces conditions, Idder et al. ont rapporté des rendements de quantification compris entre 96 ± 16 % et 113 ± 2 % pour les 12 molécules communes parmi 40 analytes (Idder et al., 2013). Des rendements compris entre 68 ± 6 % et 99 ± 4 % ont été rapportés par Boleda *et al.* pour 5 opiacés et opioïdes dans une méthode comprenant 11 analytes au total (Boleda et al., 2007). Enfin, dans une méthode multi-résidus pour la caractérisation de 55 résidus pharmaceutiques dont 11 molécules communes à celles sélectionnées, Huerta-Fontela et al. ont obtenu des rendements de quantification dans des conditions de fidélité intermédiaire compris entre 105 ± 5 % et 144 ± 9 % (Huerta-Fontela et al., 2010).

L'ensemble des autres publications citées a déterminé leurs rendements de quantification dans des conditions de répétabilité. Les valeurs rapportées sont généralement comprises entre 70 et 130% avec des dispersions souvent inférieures à 10%. Les difficultés inhérentes à une analyse multi-résidus obligent à rechercher le meilleur compromis possible. Ainsi, dans une méthode permettant l'analyse de 81 résidus médicamenteux (dont des AINS, des opiacés et des opioïdes, des antidépresseurs et des benzodiazépines) des performances moindres ont pu être observées avec des rendements compris entre 50 et 174 % et des dispersions pouvant aller jusqu'à 65% (Petrović et al., 2014).

2.4.3. Limites de quantification

Les limites de quantification rapportées dans les travaux cités en TABLEAU 2.5 sont variables et principalement dépendantes de la matrice considérée. Dans des eaux résiduaires (influent et effluent) certains auteurs rapportent des LQ de l'ordre de la dizaine de $ng.L^{-1}$ (Berset et al., 2010; Gros et al., 2012; Nefau et al., 2013; Petrović et al., 2014; Togola et al., 2008a) tandis que d'autres obtiennent des LQ de l'ordre du $ng.L^{-1}$ voire inférieur dans ce type de matrices (Baker et al., 2011b; Postigo et al., 2008). Dans les eaux de surface et de boissons, conformément aux objectifs recherchés, les valeurs des LQ rapportées sont toutes de l'ordre du ng.L-1 même si selon les analytes considérés des valeurs plus importantes peuvent être observées (Idder et al., 2013)

AMR (nbr.)	milieu	filtre	extraction			séparation (spécif.) analyse (mode)	classe(s) commune(s) (nbr. analyte(s))	performances				(réf.)
			spécif.	$V_{percolé}$	élution			$rdt_{extraction}$ (%)	rdt_{quanti} (%) (n)		LQ (ng,L^{-1})	
oui(40)	ES EB	0,45 µm (GF)	on-line SPE ESI+ : Strata X ESI- : Hypersil Gold C18	1 mL	ESI+ : H_2O (0,05% FA) ESI- : H_2O	LC (Hypersil Gold C_{18}) ESI-tQ-MS^2 (MRM)	paracétamol et AINS (5)	80-114	105±1-113±2	(n=2x5)	6-50	(Idder et al., 2013)
							antiépileptique (1)	116	96±16		5	
							benzodiazépines (6)	96-112	99±13- 107±9		2-9	
oui (65)	ERi ERe ES	0,7 µm (GF)	SPE Oasis MCX	ERi : 100mL Ere: 200mL ES : 500mL	MeOH (7% NH_4OH)	LC (Acquity BEH C_{18}) ESI-tQ-MS^2 (MRM)	cocaïniques (3) :	88-103(ERi) 91-95(ERe) 89-95(ES)	94±5-106±20(ERi) 99±5-102±6(ERe) 101±2-102±2(ES)	(n=6)	0,7(ERi) 0,6(ERe) 0,1(ES)	(Baker et al., 2011a)
							amphétaminiques (2)	86-90(ERi) 81-84(ERe) 85(ES)	94±6-97±6(ERi) 105±7-102±10(ERe) 99±7-104±6(ES)		0,7-4,2(ERi) 0,8-4,2(ERe) 0,5(ES)	
							opiacés, opioïdes (8)	38-103(ERi) 75-105(ERe) 38-96(ES)	85±8-107±3(ERi) 98±3-120±20(ERe) 88±3-120±24(ES)		0,8-64,8(ERi) 0,7-12,5(ERe) 0,5-1(ES)	
							benzodiazépines (3)	54-105(ERi) 51-110(ERe) 63-93(ES)	70±3-103±10(ERi) 96±4-122±7(ERe) 100±2-205±5(ES)		4,9-5,9(ERi) 2,8-5,7(ERe) 0,5(ES)	
							antidépresseurs (3)	61-91(ERi) 60-85(ERe) 47-97(ES)	88±12-92±15(ERi) 83±10-104±14(ERe) 87±9-113±7(ES)		3-3,6(ERi) 3,3-3,6(ERe) 0,5-5(ES)	
oui (11)	ERi ERe ES	1,6 µm (GF)	SPE Oasis HLB	250 mL	MeOH	LC (Acquity UPLC BEH C_{18}) ESI-tQ-MS^2 (MRM)	opiacés, opioïdes (5)		68±6-94±5(ERi/e) 69±6-99±4(ES)	(n=12= 2x6)	0,3-7,1 (ERi/ERe) 0,1-2,9(ES)	(Boleda et al., 2007)
oui (18)	ERi ERe ES EB	0,7 µm (GF)	SPE Oasis MCX	500 mL	EtAc/$AcCH_3$ (2% N_4OH)	GC (HP5/MS) EI-MS (Scan+SRM)	antiépileptique (1)	120	99±4	(n=3)	22,3(ERi/ERe) 1,4(ES) 0,8(EB)	(Togola et al., 2008a)
							benzodiazépines (2)	101-104	100±4-100±5		13,8(ERi/ERe) 1,4(ES) 0,4(EB)	
							AINS (4)	80-106	80±2-95±1		22,3(ERi/ERe) 1,4(ES) 0,8(EB)	
oui (19)	ERi ERe	1 µm (GF) 0,45 µm (N)	on-line SPE PLRP-s	5 mL	H_2O	LC (Purospher Star $RP-_{18}$) ESI-QqIT-MS^2 (MRM)	cocaïniques (3)	8-59	105±6-173±12	(n=6)	0,69-5,24	(Postigo et al., 2008)
							amphétaminique (1)	24	121±9		1,51	
							opiacé (1)	14	77±2		2,93	

AMR : Analyse Multi-Résidus ; ERi : Eaux Résiduaires influents ; ERe : Eaux Résiduaires effluents ; ES : Eaux de Surface ; EB : Eaux de Boisson ; GF : fibre de verre ; FA : Acide Formique ; EtAc : acétate d'éthyle

TABLEAU 2.5 – Synthèse bibliographique des méthodes d'analyses de résidus médicamenteux : psychotropes, paracétamol et AINS dans les matrices aqueuses et performances associées

AMR (nbr.)	milieu	filtre	extraction spécif.	extraction $V_{percolé}$	extraction élution	séparation (spécif.) analyse (mode)	classe(s) commune(s) (nbr. analyte(s))	performances $rdt_{extraction}$ (%)	performances rdt_{quanti} (%) (n)	performances	performances LQ (ng,L^{-1})	(réf.)
oui (81)	ERi ERe ES EB	1 µm (GF) 0,45 µm (N)	SPE Oasis HLB	ERi : 200 mL ERe : 200 mL ES : 500 mL EB : 500 mL	MeOH	LC (ESI+ : Acquity UPLC HSS T_3) (ESI- : Acquity UPLC BEH C_{18}) ESI- QqIT-MS^2 (MRM)	paracétamol et AINS (5)	NC	57±4-174±3(ERi/e) 86±30-136±1(ES) 50±3-122±21(EB)	(n=3)	3,8-30 (ERi/ERe) 4,4-30,1(ES) 1-13(EB)	(Petrović et al., 2014)
							opiacés et opioïdes (2)	NC	100±11-112±6(ERi/e) 73±6-88±4(ES) 75±8-82±8(EB)		28-50(ERi/ERe) 3,4-6,3(ES) 0,2-0,6(EB)	
							antiépileptique (1)	NC	124±65(ERi/e) 108±3(ES) 108±5(EB)		8(ERi/ERe) 2,4(ES) 8(EB)	
							antidépresseurs (6)	NC	89±14-145±13(ERi/e) 93±3-122±3(ES) 62±19-130±21(EB)		2,1-40 (ERi/ERe) 0,7-32(ES) 0,3-6,7(EB)	
							benzodiazépines (3)	NC	61±3-107±5(ERi/e) 63±2-99±6(ES) 50±3-97±2(EB)		3,7-42 (ERi/ERe) 1,5-17,7(ES) 0,2-4,5(EB)	
oui (81)	ERi ERe ES EB	1 µm (GF) 0,45 µm (N)	SPE Oasis HLB	ERi : 50 mL ERe : 50 mL ES : 100 mL EB : 500 mL	MeOH	LC (ESI+ : Acquity UPLC HSS T_3) (ESI- : Acquity UPLC BEH C_{18}) ESI- QqIT-MS^2 (MRM)	paracétamol et AINS (5)	NC	75±3-108±33(ERi) 57±4-108±15(ERe) 50±17-128±5(ES) 50±3-122±21(EB)	(n=3)	12,5-140(ERi) 3,8-30(ERe) 1,2-30(ES) 1-13(EB)	(Gros et al., 2012)
							opiacés et opioïdes (2)	NC	110±1-129±17(ERi) 100±11-112±6(ERe) 63±5-86±13(ES) 75±8-82±8(EB)		5,5-29(ERi) 3,3-28(ERe) 0,5-0,8(ES) 0,2-0,3(EB)	
							antiépileptique (1)	NC	115±4(ERi) 124±6(ERe) 110±6(ES) 108±5(EB)		15,5(ERi) 8(ERe) 1,1(ES) 0,6(EB)	
							antidépresseurs (6)	NC	66±6-147±7(ERi) 89±14-151±8(ERe) 60±15-124±3(ES) 67±13-130±21(EB)		3,5-64(ERi) 3,3-40(ERe) 0,3-33(ES) 0,3-6,7(EB)	
							benzodiazépines (3)	NC	55±10-94±5(ERi) 61±3-107±5(ERe) 72±12-122±12(ES) 50±3-97±2(EB)		6,2-43(ERi) 3,7-42(ERe) 0,4-10,1(ES) 0,2-4,5(EB)	

AMR : Analyse Multi-Résidus ; ERi : Eaux Résiduaires influents ; ERe : Eaux Résiduaires effluents ; ES : Eaux de Surface ; EB : Eaux de Boisson ; GF : fibre de verre ; N : nylon ; NC : Non Communiqué

TABLEAU 2.5 – Synthèse bibliographique des méthodes d'analyses de résidus médicamenteux : psychotropes, paracétamol et AINS dans les matrices aqueuses et performances associées (suite)

AMR (nbr.)	milieu	filtre	extraction spécif.	extraction $V_{percolé}$	extraction élution	séparation (spécif.) analyse (mode)	classe(s) commune(s) (nbr. analyte(s))	performances $rdt_{extraction}$ (%)	performances rdt_{quanti} (%) (n)		performances LQ (ng,L^{-1})	(réf.)
oui (22)	ES EB	1 µm (GF) 0,45 µm (N)	on line SPE PLRP-s	5 mL	H_2O	LC (Purospher Star RP-$_{18}$) ESI-QqIT-MS² (MRM)	cocaïniques (3)	80-116	86±10-116±2	(n=3)	0,13-1,47	(Valcárcel et al., 2012)
							amphétaminique (1)	85	97±6		1,26	
							opiacés (3)	63-93	98±7-111±3		0,57-1,45	
							benzodiazépines (3)	84-199	99±9-110±18		1,40-14,6	
oui (17)	ERi ERe	1 µm (GF)	SPE Oasis HLB	ERi : 250 mL ERe : 500mL	MeOH	LC (Xbridge Phenyl) ESI-tQ-MS² (MRM)	cocaïniques (3)	36-54	107±2-119±1	(n=3)	5-20	(Nefau et al., 2013)
							amphétaminiques (2)	23-36	103±4-113±3		20	
							opiacés et opioïdes (4)	37-93	79±18-109±5		5-40	
non (5)	ERi ERe	1 µm (GF)	SPE Oasis HLB	ERi : 250mL ERe : 500 mL	MeOH	LC (Xbridge Phenyl) ESI-tQ-MS² (MRM)	cocaïniques (2)	NC	93±13-117±11	(n=3)	1,2-2,5(ERi) 0,1-0,3(ERe)	(Karolak et al., 2010)
							amphétaminique (1)	NC	89±4		3(ERi) 0,5(ERe)	
							opiacé et opioïde (1)	NC	117±1		11,9(ERi) 2(ERe)	
oui (90)	ERi ERe ES	0,45 µm (A/NitC)	SPE Oasis HLB	100 mL	MeOH EtAc.	LC (Hypersil Gold aQ) ESI-tQ-MS² (MRM)	Anti-Alzheimer (1)	NC	116±8(ERi/e) 106±7(ES)	(n=10)	0,51(ERi/e) 0,49(ES)	(Grabic et al., 2012)
							antidépresseurs (6)	NC	84±11-110±5(ERi/e) 80±8-107±8(ES)		0,43-11(ERi/e) 0,48-10(ES)	
							AINS (1)	NC	78±16(ERi/e) 104±13(ES)		12(ERi/e) 11(ES)	
							opiacés et opioïdes (4)	NC	42±14-116±10(ERi/e) 37±8-104±10(ES)		0,43-24(ERi/e) 0,51-20(ES)	
							antiépileptique (1)	NC	112±7(ERi/e) 88±5(ES)		0,94(ERi/e) 1,2(ES)	
							benzodiazépines (4)	NC	68±5-126±17(ERi/e) 82±7-103±4(ES)		0,60-13(ERi/e) 0,55-8,9(ES)	
oui (55)	ERi ERe	1,6 µm (GF)	SPE Oasis HLB	100 mL	MeOH	LC (Acquity UPLC BEH C$_{18}$) ESI-QqIT-MS² (MRM)	antiépileptique (1)	71	105±5	(n=30= 6x5)	1,5	(Huerta-Fontela et al., 2010)
							antidépresseurs (5)	62-93	109±7-144±9		0,02-15	
							benzodiazépines (5)	71-100	107±5-135±8		0,02-15	
oui (16)	ERi ERe	1,6 µm (GF)	SPE Oasis HLB	50 mL	MeOH (2% NH_4OH)	LC (XTerra MS C18) ESI-tQ-MS² (MRM)	cocaïniques (3)	NC	96±5-109±4(ERi) 94±4-107±2(ERe)	(n=3)	0,95-1,98(ERi)/2,3-3,6(ERe)	(Castiglioni et al., 2005)
							amphétaminiques (2)	NC	102±4-104±2(ERi) 98±3-97±3(ERe)		6,3-8,7(ERi) 3,1-3,2(ERe)	
							opiacés et opioïdes (4)	NC	88±3-105±3(ERi) 67±0-90±2(ERe)		0,63-3,95(ERi) 0,1-4,3(ERe)	

AMR : Analyse Multi-Résidus ; ERi : Eaux Résiduaires influents ; ERe : Eaux Résiduaires effluents ; ES : Eaux de Surface ; EB : Eaux de Boisson ; GF : fibre de verre ; N : nylon ; A/Nit- C : mélange acéto-/nitro- cellulose ; EtAc : acétate d'éthyle

TABLEAU 2.5 – Synthèse bibliographique des méthodes d'analyses de résidus médicamenteux : psychotropes, paracétamol et AINS dans les matrices aqueuses et performances associées (suite)

AMR (nbr.)	milieu	filtre	extraction			séparation (spécif.) analyse (mode)	classe(s) commune(s) (nbr. analyte(s))	performances				(réf.)
			spécif.	$V_{percolé}$	élution			$rdt_{extract.}$ (%)	rdt_{quanti} (%) (n)		LQ (ng,L^{-1})	
non (5)	ERi	0,45 µm (NitC)	SPE Oasis MCX	50 mL	MeOH (5%NH_3)	LC (Halo C18)	amphétaminiques (2)	100-114	103±3-126±5(ERi) 133±3-137±3(ERe)	(n=4)	2,3-5,2	(González-Mariño et al., 2009)
	ERe		MIP SupelMIP-Amphetamine		MeOH (1% AA)	ESI-tQ-MS^2 (MRM)		95	100±4-111±5(ERi) 102±3-114±4(ERe)		2,2-2,3	
oui (23)	ERi	1.2 µm (GF)	SPE Strata XC	200 mL	MeOH-H_2O (90-10 v:v)	LC (Restek Viva PFPP) ESI-tQ-MS^2 (MRM)	cocaïniques (3) :	86-104	100±3-102±2	(n=3)	0,03-0,29 (LD)	(Bisceglia et al., 2010)
							opiacés, opioïdes (2)	66-66	101±0-101±0		0,11-7,7 (LD)	
							amphétaminique (1)	60	187±14		0,19 (LD)	
			injection directe 5 mL				cocaïniques (3) :	-	105±1-113±2		4-33 (LD)	
							opiacés, opioïdes (2)	-	97±5-102±4		10-670 (LD)	
							amphétaminique (1)	-	99±1		15 (LD)	
non (5)	ERi ERe ES	0,6 µm (GF)	injection directe 1 mL			LC (Hydro RP column) ESI-tQ-MS^2 (MRM)	cocaïniques (2)	NC	95±1-97±1(ERi/e) 112±5-138±4(ES)	(n=6)	20(ERi/e) 0,2(ES)	(Berset et al., 2010)
							amphétaminique (1)	NC	95±1(ERi/e) 96±8(ES)		20(ERi/e) 0,2(ES)	
							opiacés et opioïdes (4)	NC	86±3-99±35(ERi/e) 93±11-122±6(ES)		20(ERi/e) ND-1(ES)	

AMR : Analyse Multi-Résidus ; ERi : Eaux Résiduaires influents ; ERe : Eaux Résiduaires effluents ; ES : Eaux de Surface ; EB : Eaux de Boisson ; GF : fibre de verre ; Nit-C : Nitrocellulose ; AA : Acide Acétique ; NC : Non Communiqué ; LD : Limite de détection

TABLEAU 2.5 – Synthèse bibliographique des méthodes d'analyses de résidus médicamenteux : psychotropes, paracétamol et AINS dans les matrices aqueuses et performances associées (suite)

Pour conclure, les performances revendiquées par les différents travaux en terme de sensibilité (limite de quantification, limite de détection), choix de la méthode de quantification, démonstration de la justesse et de la fidélité sont très difficilement comparables tant les pratiques de caractérisation sont hétéroclites (tests mis en œuvre, matrices évaluées, méthodes de détermination, absence des métadonnées indispensables, politique de correction de la donnée, absence de détermination des niveaux d'incertitudes) tant et si bien qu'il est délicat de conclure quant à la réelle « validation » de ces méthodes. Il existe un besoin important de description et d'harmonisation des procédures analytiques tant l'impact que cela peut avoir sur les interprétations et décisions est prégnant.

Dans le cadre de ces travaux de thèse, une méthode multi-résidus associant la chromatographie en phase liquide ultra-haute pression à la spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS^2) a été développée pour la caractérisation de l'ensemble des 68 analytes à l'état de traces dans les eaux de surface et de boisson.

3. Méthode multi-résidus SPE-UPLC-MS²

Le développement de le méthode multi-résidus est le résultat de la recherche du meilleur compromis analytique dans le but de caractériser 68 composés appartenant à des classes chimiques et thérapeutiques différentes. Ce cheminement méthodologique a fait l'objet d'une publication soumise à un journal à comité de lecture. Celle-ci est présentée dans les pages suivantes.

Développement d'une méthode multi-résidus pour la caractérisation de l'occurrence de composes psychotropes dans les eaux continentales et de boisson françaises

V. Brieudes[1,2], S. Lardy-Fontan[1*] B. Lalere[1], S. Vaslin-Reimann[1], and H. Budzinski[2]

[1] Laboratoire National de métrologie et d'Essais (LNE), 1 rue Gaston Boissier, 75724 Paris, France, [2] EPOC - UMR 5805 CNRS, Université Bordeaux 1, 351 cours de la Libération, 33405 Talence, France.

*auteur correspondant au Laboratoire National de Métrologie et d'Essais (LNE), Department of Organic Chemistry, 1 rue Gaston Boissier, 75015 Paris : sophie.lardy-fontan@lne.fr

Soumis à : Journal of Chromatography A

Résumé

Cet article décrit une méthode multi-résidu par SPE-ULPC-MS/MS dans le but de caractériser l'occurrence de 68 substances psychotropes (parents, métabolites et conjugués glucuronidés) dans les eaux de surface et de boisson. En outre, la méthode mise au point autorise la quantification à des niveaux de concentration de l'ordre du $ng.L^{-1}$ et inférieurs d'une sélection de substances illicites et de résidus médicamenteux. Ceux-ci appartiennent à différentes classes chimiques et thérapeutiques dont des benzodiazépines, des antidépresseurs, des opiacés et des opioïdes, des antiépileptiques, des anti-Alzheimer ainsi que des analgésiques et des anti-inflammatoires non stéroïdiens (médicaments non psychotropes de consommation courante). Les points méthodologiques importants ont été étudiés à chaque étape du processus de mesure et caractérisés selon des procédures métrologiques. La méthode optimisée a permis d'obtenir des rendements d'extraction absolus >70% pour la majorité des analytes (49 sur 69) ainsi que les limites de quantification basses. Plus particulièrement les LQ comprises entre 0,1 et 17,8 $ng.L^{-1}$ ont été observées et celles-ci étaient inférieures à 5 $ng.L^{-1}$ pour 94% des composés étudiés. De plus, l'ajout de 25 étalons internes marqués a permis d'assurer la fiabilité de la méthode développée en compensant à la fois les effets matriciels et les pertes potentielles durant la préparation de l'échantillon. Les écart-types de répétabilité et de fidélité intermédiaire étaient typiquement inférieurs à 10 et à 20% respectivement pour 90% des composés analysés. Enfin, une campagne de mesure dans la Seine a permis de démontrer l'applicabilité de la méthode par rapport aux objectifs recherchés. 27 analytes sur 68 ont ainsi été caractérisés, dont certains pour la première fois, dans les eaux de surface française.

Mots clés : eau, pharmaceutiques, drogues, illicites, métabolites, multi-résidus, développement de méthode, dilution isotopique, SPE, UPLC-MS/MS

Step by step development of a multi-residue method for scrutinizing the occurrence of psychotropic compounds in French continental and drinking waters

V. Brieudes[1,2], S. Lardy-Fontan[1*] B. Lalere[1], S. Vaslin-Reimann[1], and H. Budzinski[2]

[1] Laboratoire National de métrologie et d'Essais (LNE), 1 rue Gaston Boissier, 75724 Paris, France, [2] EPOC - UMR 5805 CNRS, Université Bordeaux 1, 351 cours de la Libération, 33405 Talence, France.

*corresponding author at Laboratoire National de Métrologie et d'Essais (LNE), Department of Organic Chemistry, 1 rue Gaston Boissier, 75015 Paris : sophie.lardy-fontan@lne.fr

Submitted at: Journal of Chromatography A

Abstract

The present work describes a multi-residue SPE-UPLC-MS/MS method aiming at the characterization of 68 compounds, including parent compounds as well as their major metabolites and glucuronide conjugates. A step by step development was conducted toward the quantitative determination of a broad range of analytes belonging to different class of psychotropic drugs such as benzodiazepines, antidepressants, stimulants, opiates and opioids, anticonvulsants, anti-dementia drugs, analgesic and anti-inflammatory drugs (as non psychotropic drugs commonly consumed) in the low $ng.L^{-1}$ range of concentration. Methodological keypoints were addressed and every stage of the measurement procedure was optimized and characterized following metrological standards. Satisfactory absolute recoveries >70% were obtained for the majority of analytes (49 out of 68) allowing low limits of quantification. LOQ ranged between 0.1 and 17.8 $ng.L^{-1}$ and were lower than 5ng/L for 94% of investigated analytes. Furthermore, addition of not less than 25 isotopic labeled standards allowed to ensure reliability of the optimized method, compensating both matrix effects and potential loss during preparation. Intra and inter days variation were typically <10% and were <20% for 90% of investigated analytes. Finally an initial sampling campaign was conducted in the Seine River as a demonstration of the applicability of the method for its purpose. As a result, 27 out of 68 analytes were characterized; some of them for the first time in French surface water.

Keywords: pharmaceuticals, illicit drugs, metabolites, multi-residue, method development, isotopic dilution, SPE, UPLC-MS/MS, water

1. Introduction

Concern regarding the presence of potentially active substances in surface waters was brought up the end of the 90s (Daughton et al., 1999). Since then, numbers of publication highlighted the chronic contamination of aquatic environments by emerging substances (Calisto et al., 2009; Fatta-Kassinos et al., 2011). Among them, psychotropic drugs are a worldwide commonly prescribed group of compounds. During the year 2009, 7 psychoactive drugs were part of the 50 most sold pharmaceuticals on the French market (AFSSAPS, 2011). French health care services also reported almost a quarter of the population covered by the general health fund were refund for a psychotropic medication (Lecadet et al., 2003). These compounds including antidepressants, anxiolytics, antiepileptics and analgesics have been characterised in waste and surface waters in France (Togola et al., 2008a; Vulliet et al., 2011) and over the world (Baker et al., 2011a; Huerta-Fontela et al., 2008a; Kolpin et al., 2002; Kosjek et al., 2012; Schultz et al., 2010; Vasskog et al., 2008; Zuccato et al., 2000). Illicit drugs are also consumed on a regular basis eventhough its estimation is more difficult since it relies on population survey together with medical and crime statistics. This group of compounds received significant attention for a decade and have been described in French wastewater (Karolak et al., 2010; Nefau et al., 2013) as well as in both waste and surface waters in other countries (Baker et al., 2013; Berset et al., 2010; Castiglioni et al., 2006b; van Nuijs et al., 2009a; Postigo et al., 2010; Zuccato et al., 2005). Together licit and illicit psychoactive substances exhibit a large amount of different structures and effects. Their presence in environment as one complex mixture with metabolites and transformation products is acknowledged and raises concern regarding their potential effects on non-targeted organisms (Backhaus et al., 2008; Painter et al., 2009). To address this issue, in addition to ecotoxicological studies, providing occurrence data is necessary. In that perspective, efficient analytical methods are required in order to perform analysis on a broad range of analytes present at low $ng.L^{-1}$ in surface waters (Calisto et al., 2009). It implies a twofold goal: the first is to keep up monitoring on already characterized substances in aquatic environment, the second being to scrutinise for novel ones and especially for metabolites and transformation products on which only scarce information is available (Mompelat et al., 2009; Richardson et al., 2011).

A measurement procedure is defined as the detailed description of the process of experimentally attributing one or more quantity values to the measurand or in other words, the quantity intended to be measured (VIM - JCGM, 2008). Measurement procedure includes all stages of an analytical method, from sampling to the generated data and therefore, all these steps should be described, characterized and validated to suit the purpose of the method that is to say the low $ng.L^{-1}$ analysis of the dissolved fraction of continental and drinking waters for a selection of compounds. Reported methods do not always described all aspects of the analytical procedure despite their relevance in overall performances (Baker et al., 2011b). Mompelat *et al.* emphasized the critical nature of sample stability from its collection until its preparation in the determination of several pharmaceuticals in natural water samples (Mompelat et al., 2013). Baker *et al.* reported compound-dependant losses due to glassware interactions or during evaporation at different temperatures (Baker et al., 2011b). Finally, Vanderford *et al.* (Vanderford et al., 2006) and Bijlsma *et al.* (Bijlsma et al., 2009) both demonstrated that isotopic dilution was the most adequate approach to compensate matrix effects.

In this context, this work aims at presenting a step by step method optimisation and validation. Relevant stages of the method are described in this work as comprehensive development to insure data reliability.

Sample preparation optimization covered extraction as well as reconcentration together with evaluation of the influence of the percolated volume. Different types of waters (especially regarding ionic compositions) were also investigated. Implementation of isotopic dilution or internal standardization when labeled analogues were not available showed to compensate potential losses of compounds during sample preparation as well as potential matrix effects. Influence of concentration and concentration ratio in analytes and internal standards were then addressed. Finally, initial method performances were determined. All the method steps were developed under rigorous metrological procedures. The herein presented multi-residue method is suitable for the trace characterization in continental waters of 69 relevant licit and illicit psychotropic substances together other pharmaceuticals used as indicators of commonly consumed drugs including parent compounds and metabolites. To the authors' knowledge, among investigated compounds, all 4 anti-alzheimer drugs, zolpidem metabolites as well as some glucuronide conjugates are monitored for the first time in surface waters. Moreover the adopted methodology addresses current analytical issues regarding method development for environmental analysis:

- great variety of compounds and the need to also scrutinize for their metabolites
- comprehensive analytical development addressing not only extraction, separation and detection but others critical steps such as stability or evaporation to maximize method performances
- evaluation of the potential effects on the pollution load, the sample volume, or the waters composition on quantification
- interest of isotopic dilution in compensating loss during pre-treatment and/or matrix effects and the need for commercial available labeled standards.

2. Material and method

2.1. Analytes selection

Selection of analytes was documentary based regarding several criteria taking into account the national context. Initially potential selected molecules were screened form the N nomenclature for the Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification system from the World Health Organization as it exhaustively gathers substances with pharmacological activity on the central nervous system (WHOCC, 2002). Understandingly, illicit drugs are not listed in this classification system but were added to the pool of potential analytes with psychotropic properties. From there, the following set of criteria have been hold: national consumption (based on public national statistics (AFSSAPS, 2011; CPAM, 2010; Lecadet et al., 2003), human metabolism, occurrence and fate in wastewater treatment plant and natural environments as well as ecotoxicity, when available. Moreover, the selection was carried out keeping in mind that the present work also aimed at improving the general knowledge and understanding of the issue of pharmaceuticals in the environment. This

process lead to the selection of 69 targets belonging to different classes of pharmaceutical residues as listed below:

- 4 anti-Alzheimer drugs: donepezil, galantamine, memantine and rivastigmine which were to the authors' knowledge, never investigated in the aquatic system
- 4 anticonvulsants: carbamazepine and its metabolite 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepine, gabapentin and oxcarbazepine
- 12 Antidepressants including parent compounds and metabolites: citalopram, desmethylcitalopram, fluoxetine, norfluoxetine, mianserin, paroxetine, (-)-trans-4-[4-(4'-fluorophenyl)-3-piperidinylmethoxy]-2-methoxyphenol, sertraline, tianeptine, venlafaxine, O-desmethylvenlafaxine and O-desmethylvenlafaxine glucuronide
- 13 benzodiazepines and metabolites: alprazolam, bromazepam, 3-hydroxybromazepam, clonazepam, clorazepate, diazepam, lorazepam, lormetazepam, nordazepam, oxazepam, oxazepam glucuronide, prazepam and tetrazepam
- 5 hypnotic drugs and metabolites: zolpidem, zolpidem phenyl-4-carboxylic acid, zolpidem 6-carboxylic acid, zopiclone and zopiclone-N-oxide
- 1 other psycholeptic drug: meprobamate
- 12 opiates and opioids including metabolites: buprenorphine, codeine, methadone, morphine, oxycodone, tramadol, buprenorphine-3-β-glucuronide, codeine-6-β-glucuronide, methadone's metabolite 2-Ethylidene-1,5-Dimethyl-3,3-Diphenylpyrolidine (EDDP), morphine -3-β- and -6- β- glucuronide and norcodeine
- 7 illicit drugs: cocaine and its metabolites benzoylecgonine and cocaethylene, 2 amphetamines (3,4-methylenedioxyamphetamine MDA and 3,4-methylene-dioxy-N-methylamphetamine MDMA) and 2 amphetamine-likes (mephedrone and meta-Chlorophenylpiperazine mCPP)
- 11 other pharmaceuticals: acetaminophen and 4 nonsteroidal antiflammatory drugs (NSAIDs) (diclofenac, ketoprofen, ibuprofen and naproxen) as well as some of their metabolites (acetaminophen glucuronide, carboxyibuprofen, 2-hydroxyibuprofen, ibuprofen glucuronide, ketoprofen glucuronide and naproxen glucuronide) were finally chosen as non psychotropic drugs commonly consumed.

All 69 investigated analytes' names, structures, formulas, molecular weights, and CAS numbers are displayed in supplementary information (Figure S1). Additional information including physic-chemical properties (pKa and log Kow), nature of the salt, and supplier are also available in supplementary information (Table S1).

2.2. Chemicals and reagent

The 69 selected compounds as well as a set of 25 isotopic labelled compounds (C13 and deuterated) used as internal standards, were obtained as pure analytical standards (purity given in Table S1 from the supplementary information) or methanolic solutions (0.1 or 1 $mg.mL^{-1}$)) from Lipomed (Arlesheim, Switzerland), LGC Standards (Molsheim, France), Sigma-Aldrich (St. Quentin Fallavier, France), and Cluzeau Info Labo (Sainte Foy La Grande, France). Acetonitrile (Ultra gradient HPLC - grade Baker HPLC analyzed) and methanol (Baker analyzed LC-MS reagent) were purchased from Atlantic labo-Ics (Bruges, France). High purity laboratory water was provided by a Milli-Q purification system

(Millipore, Molsheim, France). Evian® and Vittel® table waters (France Boissons, Rueil-Malmaison, France) were used as reference waters during initial development and initial characterization of the method. Acetic acid (AnalaR Normapur®, purity=100%), formic acid (AnalaR Normapur®, purity>99%), sodium thiosulfate pentahydrate (AnalaR Normapur®, purity>99.5%) and EDTA, Na_2 (Ethylenediaminetetraacetic acid disodium) 3.7% in water (Merck, purity>99.998%) were purchased from VWR (Fontenay-sous-Bois, France). Ammonium hydroxide (ACS reagent 28-30% NH_3 basis), ammonium acetate (99.999% trace metals basis) and ammonium formate (≥99.995% trace metals basis) were acquired from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).
Individual stock solutions were gravimetrically prepared between 0.1 and 5 $mg.mL^{-1}$ in methanol. Final mixed solutions of the 69 reference analytical standards and the 25 isotopic labelled standards were made by diluting as needed for working solutions preparation. All solutions were stored at –20±6°C in the dark. All the experiments were implemented under rigorous metrological procedures with implementation of gravimetric control at each critical step of the procedure.

2.3. Sample preparation

2.3.1. Sample collection

Environmental grab samples were collected in glass amber bottles on the 14th of may 2013 at 4 different locations in the Seine River. Prior to SPE, samples were vacuum filtered through Whatman® 0.7µm type F glass fibre filters (Fisher Bioblock Scientific, Illkirch, France) with disposable setup. Then they were supplemented with 0.05% EDTA (v/v), acidified to pH 3 with formic acid and spiked with the mixed internal standards solution to give a concentration of 100 $ng.L^{-1}$. The overall analytical sample preparation procedure took place within the day of sampling.

2.3.2. Solid Phase Extraction

The final SPE procedure was achieved on Oasis® MCX (60mg, 3cc) cartridge (Waters, Guyancourt, France) conditioned with 3 mL methanol and 3 mL of Evian® water (0.05% EDTA (v/v)) adjusted at pH 3 with formic acid. A volume up to 1L of water sample was percolated at a flow rate of 5 $mL.min^{-1}$. Before elution, cartridges were dried under vacuum for 45 minutes and then eluted, successively, with 3 mL MeOH and 3 mL MeOH with 2% ammonium hydroxide (v/v).

2.3.3. Reconcentration step

Extracts were concentrated to dryness under controlled vacuum at a temperature of 40°C using a Savant SC250Exp SpeedVac® concentrator (Thermo-Scientific, Villebon sur Yvette, France). Before injection, extracts were reconstituted with a mixture of H_20-MeOH (90:10, v/v). Volume of reconcentration ranged from 100 µL to 1 mL in order to match with the calibration domain of the method.

2.4. Ultra Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry

Separation of analytes and internal standards was achieved by ultraperformance liquid chromatography using an Acquity UPLC® system (Waters, France). An Acquity UPLC BEH C18 column (1.7µm; 2.1mm x 100mm) heated at 40°C equipped with a 0.2 µm prefilter was employed in the final conditions. A gradient using Milli-Q water (Solvent A) and acetonitrile (Solvent B) both with 0.1% (v/v) acetic acid was used at a constant flow rate of 0.6 $mL.min^{-1}$. Elution started for 1.5 minutes with 95% A, decreasing to 40% A in 7.5 minutes and then down to 5% A in 1 minute. These conditions were kept for 2 minutes more before getting back to initial conditions for a 5 minutes re-equilibration. A 2 analytical run strategy was adopted to obtain sufficient dwell times and ensure optimum sensitivity and satisfactory resolution. A Xevo TQ-MS® triple quadripole mass spectrometer (Waters, France) equipped with an electrospray ionisation (ESI) source was employed for detection of analytes. Acquisition was achieved in both positive and negative mode. Capillary voltage was set at 2.5kV in negative mode and 2.7kV in positive mode, source and desolvatation temperatures were maintained at 150°C and 650°C respectively. Cone gas was switched off whereas desolvatation gas (nitrogen) flowed at 1000 $L.h^{-1}$. Collision gas (argon) pressure was controlled at a vaccum of $3.5e^{-3}$ mbar. Compounds were analysed by MRM using protonated or unprotonated molecular ion as precursor; first and second most abundant ion transitions were selected in most of the cases for quantification and confirmation respectively. According to European Council Directives on performance requirements for mass spectrometry detection a total of four identification criteria were used: retention time, 2 MRM transitions and abundance ratio (with 20-50% tolerance) (European Commission, 2002).

2.5. Characterization of initial performances of the method

The method has been characterized for performances that were relevant with the objectives of the study: linearity range, limit of quantification, recovery, repeatability and intermediate precision. Each of the 69 compounds was quantified by isotopic dilution or internal standardization using isotope labeled standards as detailed in Supplementary Information (Table S1). Linearity was assessed, by 9 points calibration curves in the range 0.1-200$ng.g^{-1}$. For each point of the calibration curve, 3 independent samples were prepared and injected randomly. Thus, a total of 27 points were considered to draw the calibration curve (ratio of the areas between each compound and its respective internal standard as a function of the ratio of their concentrations). Instrumental quantification limits (IQL) were determined following a maximum acceptable deviation approach with a threshold value of 20% for the coefficients of variation of instrumental repeatability. Both quantification and confirmation transitions were evaluated and final retained IQL was the highest of the two. This decision was driven by the intention of insuring identification and quantification especially at ultra trace levels. Method quantification limits (MQL) were then calculated by taking into account quantification recoveries and concentration factors (Eqs.1):

$$MQL=(IQL*100)/(R*f) \qquad (1)$$

where MQL is the method quantification limit in $ng.L^{-1}$, IQL the instrumental quantification limit in $ng.L^{-1}$, R the quantification recovery in % and f the reconcentration factor.
Quantification recoveries of the SPE-UPLC-MS/MS method were assessed by comparison with theoretical concentration of three independent samples of 500mL 0.05%EDTA Evian® water spiked at $250ng.L^{-1}$ each analyzed on different days.
Intra and inter days variations between independent triplicates analyzed on three different days were used in order to assess repeatability and intermediate precision of the method.
Evaluation of method applicability also induced evaluation of the influence of concentration (high ($250ng.L^{-1}$) and low ($50ng.L^{-1}$) levels of spiking) and percolation volume (100mL up to 1L) on quantification recoveries. Furthermore particular attention was addressed on procedural blank and quality control relevant points.

2.6. Effect of water composition: Evian®, Vittel® and tap water

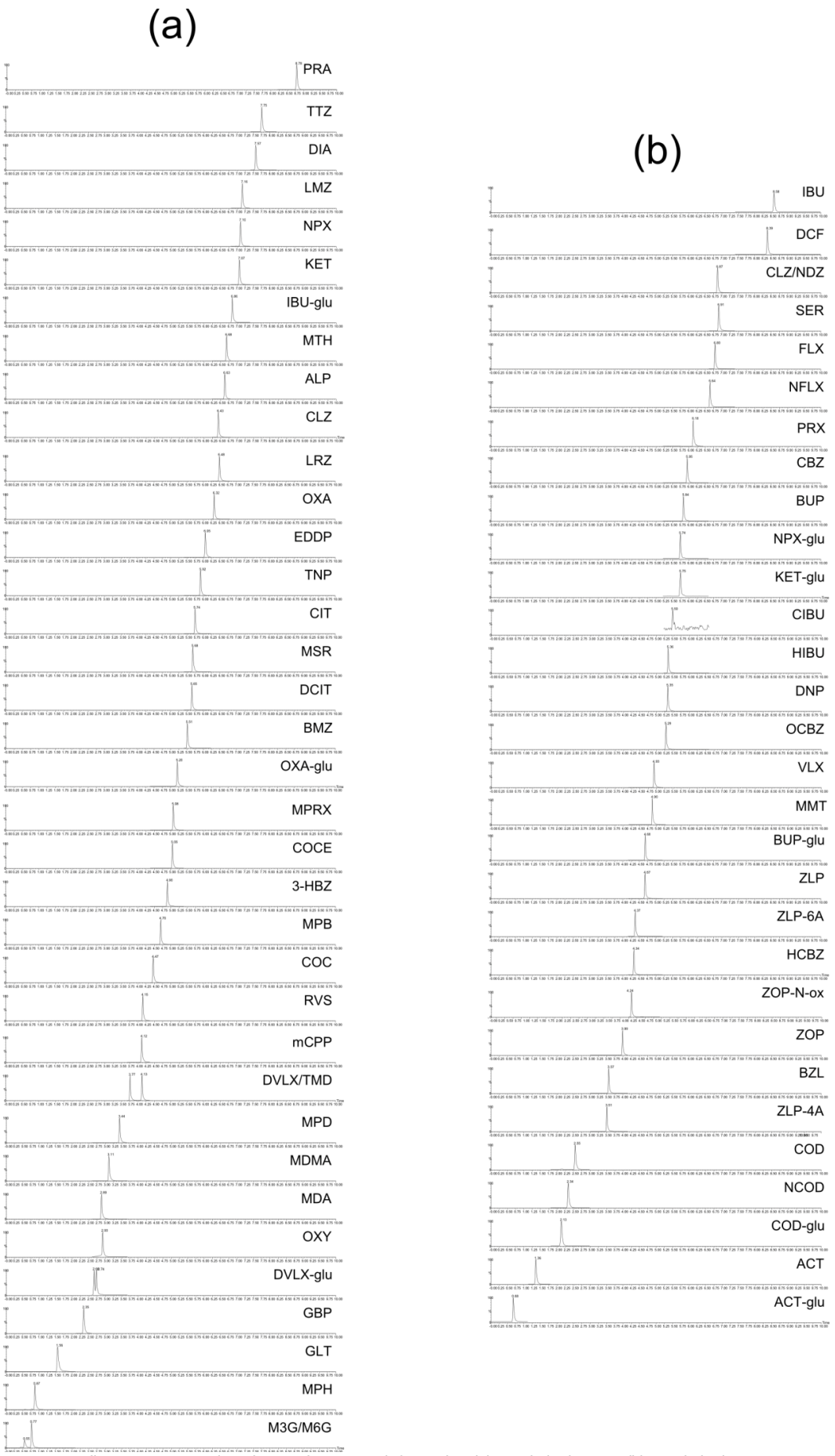
Effect of water ionic charge (Evian®, Vittel®) was studied. Exhaustive compositions of both waters are given in supplementary information (Table S2). Comparison with tap water was also conducted by analyzing 0.05% EDTA Evian® and 0.05% EDTA tap water samples spiked at $250ng.L^{-1}$ were prepared with or without $50mg.L^{-1}$ sodium thiosulfate.

3. Results and discussion

3.1 Step by step development of the SPE-UPLC-MS/MS method

3.1.1 Ultra Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry

An analytical method was developed to achieve an efficient separation of the 69 investigated compounds for the purpose of their detection and quantification in environmental aqueous matrix. Separation optimisation consisted in investigating parameters such as column chemistry (Acquity® UPLC BEH C18 (1.7µm; 2.1mm x 100mm), Acquity® UPLC BEH Shield RP18 (1.7µm; 2.1mm x 50mm), and Acquity® UPLC HSS T3 column (1.7µm; 2.1mm x 100mm) (Waters, France)), flow rate (from 0.3 up to 0.6 mL/min) temperature of the column (from 30 up to 60°C), nature of mobile phases (water-methanol and water-acetonitrile) and effect of additives (formic acid and acetic acid (from 0.05% up to 1%) as well as adjunction of ammonium formate and ammonium acetate (from 1mM up to 10mM). The better compromise regarding the range of polarity of the selected analytes was sought regarding peak shapes, resolution and signal/noise ratios. Finally, Acquity® BEH C18 (1.7µm; 2.1mm x 100mm) column procured the better overall resolution including sufficient retention for morphine-3-β-glucuronide (0.56 min) the most polar of all analytes. Narrower peaks and better separation were obtained with acetonitrile containing acidic additives. In these conditions ESI performances for basic compounds were increased whereas NSAID showed loss of sensitivity. Enventually 0.1% acetic acid emerged as the best compromise. C18 reversed phase columns are frequently used in multi-residue analysis because they are versatile and offers separation for a wide range of analytes (Baker et al., 2011a; Bijlsma et al., 2012; Demeestere et al., 2009; Grabic et al., 2012; Gros et al., 2006; Huerta-Fontela et al., 2007; Postigo et al., 2008).



all acronyms are given in supplementary information (a): analytical run A, (b): analytical run B

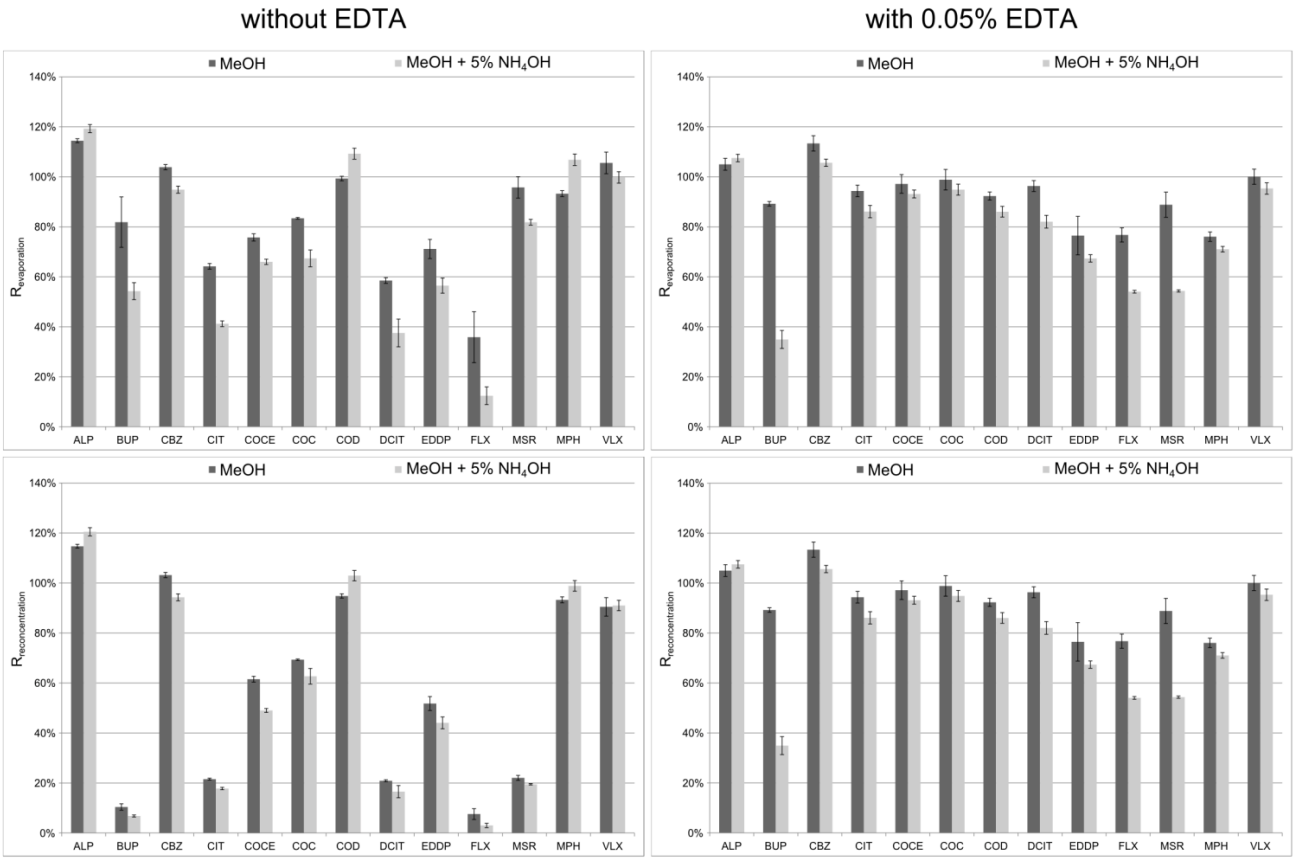
Fig.1. MRM chromatograms (transitions of quantification, only) of the selected compounds under optimized instrumental conditions at 50 ng.mL^{-1}

Typically, gradients of water/acetonitrile (Demeestere et al., 2009; Huerta-Fontela et al., 2007), water/methanol (Baker et al., 2011a; Bijlsma et al., 2012; Gros et al., 2006), or water/acetonitrile-methanol (Grabic et al., 2012) are employed with acidification with acetic acid (Baker et al., 2011b) or formic acid (Bijlsma et al., 2012; Demeestere et al., 2009; Grabic et al., 2012; Huerta-Fontela et al., 2007). Aqueous acidified mobile phase is sometimes buffered with ammonium acetate (Gros et al., 2006) or formate (Huerta-Fontela et al., 2007). Final UPLC method is described in section 2.4. A two analytical runs strategy was adopted in order to obtain sufficient dwell time and ensure satisfactory sensitivity especially while operating a large amount of transitions in both positive and negative mode. Figure 1 shows investigated analytes obtained chromatographic separation for runs (a) and (b). Separation between clorazepate and nordazepam was not achieved by chromatography and when infused into the source, clorazepate only yielded signal in Q1 at m/z = 271 in ESI+ mode suggesting spontaneous decarboxylation to nordazepam occurred on the probe (Raihle et al., 1975). As they possess identical MRM transitions they were quantified as one: generated data regarding these compounds are therefore semi-quantitative. All retention times and selected transitions (two per compounds) are listed in Table S1 from supplementary information. Only one transition was observed for buprenorphine-3-β-glucuronide, morphine-3-β-glucuronide, morphine-6-β-glucuronides, acetaminophen, diclofenac, carboxyibuprofen, 2-hydroxyibuprofen and ibuprofen. No confirmation transitions are usually reported for ibuprofen and its metabolites (Batt et al., 2008; Gómez et al., 2006) whereas some were found for acetaminophen (Batt et al., 2008), diclofenac (Demeestere et al., 2009; Gómez et al., 2006; Grabic et al., 2012) and morphine glucuronides (Castiglioni et al., 2006b; Postigo et al., 2008) and yet signals were too low to be monitored under operating conditions. Therefore, only retention time and quantification transitions will be used as identification points. However, for compounds quantified by isotopic dilution such as acetaminophen, diclofenac and ibuprofen, comparison of retention times with those of their labelled analogues will help in the detection confirmation (Bijlsma et al., 2009; Castiglioni et al., 2008).

3.1.2 Reconcentration step

Reconcentration is not often addressed or reported as an analytical development stage. However, evaporation and then reconstitution are inherent to sample preparation as the final step to perform before injection in the chromatographic system. Both evaporation and reconcentration (as a procedure comprehending evaporation and reconstitution) recoveries were evaluated in different solvents (methanol, ethyl acetate-acetone (1:1)) with or without 5% NH_4OH (v/v). Finally, effect of the adjunction of a chelating agent (EDTA) was investigated. Evaporation was performed till dryness and down to 100 µL as described in section 2.3.3. Temperature was triggered at 40°C which is consistent with both optimized chromatographic conditions and reported work from literature (Baker et al., 2011b). Every sample was prepared as independent triplicates. Overall recoveries were lower with ethyl-acetate/acetone compare to methanol for opioids, anti-Alzheimer drugs, as well as amphetamines and amphetamine-likes. Norcodeine, galantamine and MDMA showed losses in ethyl-acetate/acetone of 32%, 85% and 74% respectively while were of 10%, 4% and 8% in methanol. Similar results are reported for MDMA in literature: Clauwert *et al.* found up to 50% loss when evaporated to dryness at 35°C in hexane-ethyl acetate

(Clauwaert et al., 2000) while at 40°C, 84% recovery was reported in methanol by Baker *et al.* (Baker et al., 2011b). Figure 2 displays average absolute recoveries (n=3) for a selection of analytes in methanol and alkaline methanol after evaporation and after the whole reconcentration procedure (evaporation + reconstitution).

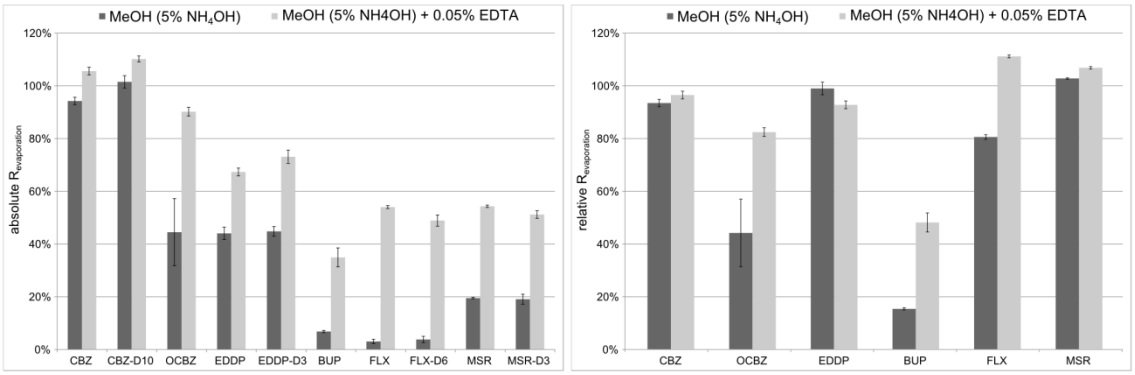


ALP: alprazolam, BUP: buprenorphine, CBZ: carbamazepine, CIT: citalopram, CCET: cocaethylene, COC: cocaine, COD: codeine, DCIT: desmethylcitalopram, EDDP : 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrolidine, FLX: fluoxetine, MSR: mianserin, MPH: morphine, VLX: venlafaxine

Fig.2. Average absolute evaporation and reconcentration recoveries (n=3) in MeOH and 5% NH_4OH/MeOH for a selection of analytes with or without 0.05% EDTA.

Opioids and antidepressants showed significant loss during reconcentration: recoveries for EDDP and citalopram were for instance lower than 10% and 21% were respectively. These losses are only partially accountable for evaporation process as absolute evaporation recoveries were generally better: 54% and 41% for EDDP and citalopram respectively. These results highlighted that other phenomena could occur resulting in lower overall recoveries. In presence of 0.05% EDTA, all compounds presented reconcentration recoveries from 76 to 113% in methanol and from 67 to 107% in alkaline methanol. Only buprenorphine, fluoxetine, and mianserine showed lower recoveries in these conditions. Regarding evaporation step only, absolute recoveries were satisfactory for all compounds as they were contained within 80-110% in methanol, and from 74-124% in alkaline methanol. Addition of EDTA is known to reduce antibiotic losses during sample preparation by chelating soluble residual metal ions thus preventing from binding with analytes into

complexes (Batt et al., 2008; Hernández et al., 2007). Those complexes may interact with silanol groups at the surface of glassware through binding with metal ions (Hernández et al., 2007). A similar mechanism seems to take place as all recoveries were improved in presence of EDTA. EDTA concentrations was evaluated form 0.01% to 3.7% and low concentration EDTA (0.05% (v/v)) was chosen as it appeared as a good compromise toward ESI performance and effectively compensate most of observed losses. Baker *et al.* reported glassware interactions for some of the investigated compounds (cocaine, MDMA, methadone, EDDP, tramadol, and venlafaxine) (Baker et al., 2011b). No such glassware interactions were observed in our case by comparing results with silanized and unsilanized glassware (data not shown), but it can be assumed that if glassware were to be damaged by it normal using (cleaning etc…), potential interaction would then be corrected by the implemented quantification process. Figure 3 displays the interest of isotopic dilution in compensating losses during reconcentration.



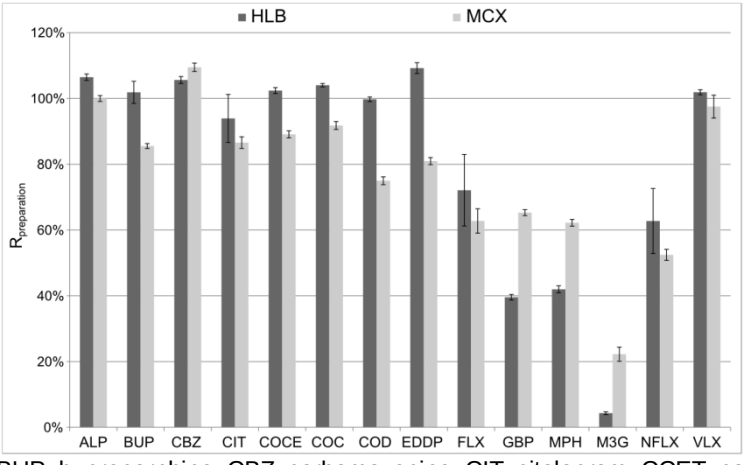
CBZ: carbamazepine, CBZ-D10: carbamazepine-D10, OCBZ: oxcarbazepine, EDDP: 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrolidine, EDDP-D3 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrolidine-D3, BUP: buprenorphine, FLX: fluoxetine, FLX-D6: fluoxetine-D6, MSR: mianserine, MSR-D3: mianserine-D3

Fig.3. Interest of isotopic dilution in compensating losses during reconcentration: average absolute and relative recoveries (n=3) in alkaline methanol with or without 0.05%EDTA.

Both average absolute recoveries and avarage relative recoveries in alkaline methanol with or without 0.05%EDTA are showed for a selection of compounds. Whatever loss underwent, observed absolute recoveries indicates that as they behaved similarly, isotopic labeled analogues compensated it leading to relative recoveries close to 100% (*e.g.*: EDDP, fluoxetine and mianserine). However, when compounds were not quantified by isotopic dilution, correction by internal standard was not always insured: carbamazepine-D10 did not compensate all oxcarbazepine's losses without EDTA in the extract. Optimization of the reconcentration procedure with EDTA occurred to solve this issue and relative recovery for oxcarbazepine where then of about 80%. This results stressed out, importance of method optimization not only for improving sensitity for compounds quantified by isotopic dilution (*e.g.*: EDDP, fluoxetine and mianserine) but also for compounds quantified by internal standardization. Finally, implementation of isotopic dilution appears to be the most effective way to insure reliability of the quantification process althought is not autosufficient and should be associated with appropriate optimization.

3.1.3 Solid Phase Extraction

Off line Solid Phase Extraction is by far the most frequently used technique for environmental samples extraction and concentration in order to reach low $ng.L^{-1}$ quantification limits. Several parameters including SPE sorbents (Oasis®HLB (60mg, 3cc) and Oasis® MCX (60mg, 3cc) (Waters, France)), elution conditions (nature of solvents, nature of buffers) and percolation conditions (sample pH; flow rate) were evaluated. Extraction on HLB cartridges was performed at neutral and acidic pH with elution by 2x3mL of methanol whereas extraction on MCX cartridges was performed at acidic pH only. Elution was achieved by 3mL of methanol and 3mL of 2% NH_4OH/MeOH (v/v). Every sample was prepared as independent triplicates of 100 mL of 0.05%EDTA Evian® water (v/v) spiked at $500ng.L^{-1}$. Absolute preparation recoveries (SPE extraction and reconcentration) were determined by comparison to a reference sample. Overall recoveries were lower at neutral pH on HLB sorbent than at acidic pH with both HLB and MCX sorbents. In particular, opioids', amphetamines', and SSRI antidepressants' recoveries increased under acidic conditions. For instance, recoveries of buprenorphine (pKa=9.8), methadone (pKa=8.7), MDMA (pKa=9.9) mianserine (pKa=8.3), fluoxetine (pKa=9.6) were 34 to 85% higher (data not shown). Indeed, most of the selected analytes are basic drugs and their stability through the extraction process is increased as there are present under their protonated forms (Baker et al., 2011a; Gheorghe et al., 2008). Figure 4 shows average absolute preparation recoveries (n=3) obtained with Oasis® HLB and MCX at pH 3 for a selection of analytes.



ALP: alprazolam, BUP: buprenorphine, CBZ: carbamazepine, CIT: citalopram, CCET: cocaethylene, COC: cocaine, COD: codeine, EDDP: 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrolidine, FLX: fluoxetine, GBP: gabapentin, MPH: morphine, M3G: morphine-3-β-glucuronide, NFLX: norfluoxetine, VLX: venlafaxine

Fig. 4. Average absolute preparation recoveries (n=3) at 500ng/L (100mL percolated) with Oasis® HLB and MCX sorbents at pH 3 for a selection of analytes.

On the one hand HLB phase provided higher recoveries for some compounds as codeine and EDDP but on the other hand, most polar compounds as morphine and gabapentin could not be properly retained and were probably eluted during sample percolation. Recoveries were respectively of 40 and 42% for gabapentin and morphine with HLB phase while were of 65 and 62% with MCX sorbent. Mixed mode extraction was therefore found

more appropriate. Moreover observed dispersion of recoveries were lower for SSRI antidepressants: coefficients of variation of repeatability dropped from 30% to 12% for fluoxetine and similar observation were made on norfluoxetine, paroxetine and sertraline. These results showed interest of MCX over HLB for basic compounds and especially for very polar ones for which ionic interaction with sorbent induces strongest retention. High recoveries were obtained for all compounds with implementation of the method described in section 2.3.2. It is to the authors' knowledges the first reported protocol for the common extraction for some never or not often investigated parent compounds such as the 4 anti-Alzheimer drugs and metabolites such as zolpidem 6-carboxylic acid, zopidem phenyl-4-carboxylic acid, zopiclone-N-oxide, *O*-desmethylvenlafaxine glucuronide, buprenorphine-3-β-glucuronide, codeine-6-β-glucuronide and oxazepam glucuronide.

3.2 Evaluation of the applicability of the method for monitoring purposes

Before launching environmental monitoring programs, and with respects to the optimized developed SPE-LC-MS-MS conditions, the demonstration that a method is fit for its purpose has to be done. To do so, relevant initial performances of the method were determined. Moreover, an initial 24 hours stability test was performed to ensure the applicability of the procedure. Finally, the ability of the method to identify and quantify the selected compounds were assessed thanks to an initial study in river water.

3.2.1 Characterization of initial performances of the method

Table 1 shows initial performances characterization of the optimized method. This characterization included estimation of the calibration model, quantification limits and method recoveries (preparation and quantification). Preparation recoveries were obtained after method optimization with percolated volumes of 100mL spiked at 500 $ng.L^{-1}$ while quantification recoveries were obtained in the method's application conditions with percolated volumes of 500mL spiked at 250 $ng.L^{-1}$.

The expected calibration model is a linear one where y=f(x) as specially in the present work (A/A*)=f(C/C*).The adequation to the model was evaluated by 9 points calibration curves prepared in H_2O-MeOH (90:10, v/v) between 0.1 $ng.g^{-1}$ to 200 $ng.g^{-1}$ and considering correlation coefficients (R^2). All compounds showed correlation coefficient higher than 0.989 (Table 1). Displayed linearity is satisfactory and indicated suitability of the quantification process.

Method quantification limits (MQL) were below 1 $ng.L^{-1}$ for 52 out of 69 analytes and 13 others are ranging from 1 to 5 $ng.L^{-1}$ (Table 1). Only four analytes exhibited higher LOQ: naproxen and ketoprofen glucuronide's were of about 9 and 18 $ng.L^{-1}$ respectively and carboxyibuprofen could not be quantified below 10 $ng.L^{-1}$. Norfluoxetine also displayed a high MQL of about 16 $ng.L^{-1}$ which is due to the fact that confirmation transition is about 35 time less intense than quantification one. It lead to a dramatic increase of the threshold value of the coefficients of variation of instrumental repeatability which was chosen at 20% maximum (see section 2.5).

Table 1
Initial performances characterization of the optimized method

compound	R^2 on the range LOQ-200ng.g^{-1}	IQL	MQL	average intra-day preparation recoveries (%) (n=3)			average intra and inter-days preparation recoveries (%) (n=9)			average quantification recoveries (%) (n=3)	
		(pg)	(ng.L^{-1})	absolute	relative	RSD (%)	absolute	relative	RSD (%)	relative	RSD (%)
Anti-Alzheimers											
donepezil	0.9903	30	1.6	99	103	± 6	104	112	± 11	91	± 23
galantamine	0.9986	3	0.2	72	92	± 1	71	90	± 0	103	± 6
memantine	0.9970	4	0.2	111	116	± 6	105	114	± 1	103	± 7
rivastigmine	0.9998	6	0.3	93	100	± 4	96	101	± 1	96	± 1
Anticonvulsants and their metabolites											
carbamazepine	0.9997	3	0.2	109	106	± 2	111	106	± 3	104	± 9
gabapentin	0.9991	2	0.1	65	83	± 3	65	83	± 5	94	± 10
oxcarbazepine	0.9972	6	0.3	63	61	± 4	65	63	± 14	77	± 9
10,11-dihydro-10,11-dihydroxy-carbamazepine	0.9997	18	0.9	105	102	± 1	103	99	± 1	89	± 8
Antidepressants and their metabolites											
citalopram	0.9992	7	0.4	87	105	± 4	89	105	± 4	97	± 1
desmethylcitalopram	0.9973	7	0.4	85	88	± 6	86	89	± 0	87	± 22
fluoxetine	1.0000	64	3.4	63	100	± 12	67	95	± 9	96	± 4
mianserin	0.9994	6	0.3	78	96	± 6	82	100	± 3	104	± 3
norfluoxetine	0.9989	307	16.3	52	84	± 6	58	82	± 3	80	± 9
O-desmethylvenlafaxine	0.9999	4	0.2	87	98	± 5	87	97	± 5	101	± 3
O-desmethylvenlafaxine glucuronide	0.9999	14	0.8	78	88	± 4	77	86	± 1	78	± 15
paroxetine	0.9996	33	1.8	55	87	± 9	59	83	± 10	88	± 15
paroxetine metabolite*	0.9963	33	1.7	45	47	± 7	62	67	± 3	59	± 10
sertraline	0.9999	31	1.6	47	75	± 9	50	71	± 21	62	± 5
tianeptine	0.9991	32	1.7	119	145	± 4	126	148	± 5	159	± 12
venlafaxine	0.9989	6	0.3	98	102	± 7	93	100	± 3	106	± 4

Table 1 (continued)

compound	R^2 on the range LOQ-200ng.g^{-1}	IQL	MQL	average intra-day preparation recoveries (%) (n=3)			average intra and inter-days preparation recoveries (%) (n=9)			average quantification recoveries (%) (n=3)	
		(pg)	(ng.L^{-1})	absolute	relative	RSD (%)	absolute	relative	RSD (%)	relative	RSD (%)
Benzodiazepines, "Z-drugs" and their metabolites											
alprazolam	0.9993	7	0.4	100	101	± 2	102	100	± 2	93	± 5
bromazepam	0.9993	7	0.4	95	99	± 1	94	97	± 2	103	± 2
clonazepam	0.9998	7	0.4	103	95	± 3	112	96	± 4	72	± 4
diazepam	0.9993	2	0.1	107	98	± 2	115	98	± 4	102	± 2
lorazepam	0.9989	7	0.4	101	110	± 4	106	107	± 3	113	± 5
lormetazepam	0.9997	14	0.7	110	101	± 4	120	103	± 5	107	± 1
nordazepam-clorazepate	0.9998	3	0.2	104	104	± 3	111	104	± 3	103	± 2
oxazepam	1.0000	2	0.1	96	104	± 2	101	102	± 2	105	± 2
oxazepam glucuronide	0.9989	15	0.8	104	113	± 4	111	112	± 5	123	± 8
prazepam	0.9973	3	0.2	125	135	± 5	148	149	± 13	280	± 21
tetrazepam	0.9993	4	0.2	88	95	± 4	89	90	± 5	146	± 16
zolpidem	0.9992	2	0.1	88	97	± 2	90	99	± 2	110	± 1
zolpidem 6-carboxylic acid	0.9998	3	0.2	94	103	± 2	91	101	± 2	88	± 9
zolpidem 4-phenyl-carboxylic acid	0.9971	2	0.1	83	91	± 3	80	89	± 2	92	± 8
zopiclone	0.9999	17	0.9	81	130	± 1	76	81	± 5	106	± 3
zopiclone-N-oxyde	1.0000	16	0.8	51	82	± 10	47	50	± 12	63	± 9
3-hydroxybromazepam	0.9992	71	3.8	93	97	± 2	94	97	± 5	104	± 9
Illicit drugs and their metabolites											
benzoylecgonine	0.9998	2	0.1	87	103	± 1	86	104	± 1	101	± 1
cocaethylene	0.9995	2	0.1	89	95	± 2	88	93	± 3	96	± 3
cocaine	0.9998	2	0.1	92	98	± 3	94	100	± 3	100	± 1
mephedrone	0.9999	64	3.4	49	62	± 3	52	66	± 37	84	± 2

Table 1 (continued)

compound	R^2 on the range LOQ-200ng.g^{-1}	IQL	MQL	average intra-day preparation recoveries (%) (n=3)			average intra and inter-days preparation recoveries (%) (n=9)			average quantification recoveries (%) (n=3)	
		(pg)	(ng.L^{-1})	absolute	relative	RSD (%)	absolute	relative	RSD (%)	relative	RSD (%)
Illicit drugs and their metabolites (continued)											
mCPP	0.9992	6	0.3	64	82	± 1	66	84	± 5	81	± 10
MDA	0.9995	3	0.2	82	104	± 2	78	99	± 3	98	± 3
MDMA	0.9999	4	0.2	81	102	± 3	81	102	± 2	103	± 1
Opioids and their metabolites											
buprenorphine	0.9995	33	1.8	86	104	± 2	88	103	± 2	111	± 5
buprenorphine-3-b-glucuronide	0.9997	6	0.3	94	122	± 2	93	119	± 1	139	± 6
codeine	0.9999	7	0.4	75	98	± 2	77	99	± 3	103	± 2
codeine-6-b-glucuronide	1.0000	7	0.4	64	101	± 1	63	101	± 1	101	± 2
EDDP	0.9993	2	0.1	81	99	± 3	84	99	± 4	103	± 2
methadone	0.9998	5	0.3	89	100	± 4	95	100	± 3	113	± 2
morphine	0.9999	3	0.2	62	91	± 3	63	92	± 7	95	± 4
morphine-3-b-glucuronide	0.9978	16	0.8	22	33	± 19	36	52	± 32	11	± 21
morphine-6-b-glucuronide	1.0000	3	0.2	50	73	± 4	56	81	± 10	38	± 74
norcodeine	0.9997	15	0.8	80	104	± 5	83	106	± 4	91	± 5
oxycodone	0.9994	3	0.2	73	97	± 2	69	97	± 16	102	± 1
tramadol	0.9999	62	3.3	92	98	± 5	93	99	± 2	92	± 1
Other											
meprobamate	0.9999	17	0.9	103	111	± 4	101	107	± 2	100	± 4
Other commonly consumed drugs and their metabolites											
acetaminophen	0.9999	2	0.1	46	99	± 1	42	93	± 4	106	± 6
acetaminophen glucuronide	0.9996	68	3.6	5	210	± 28	5	140	± 14	-	
carboxyibuprofene	0.9891	182	9.7	144	112	± 36	151	109	± 27	-	

Table 1 (continued)

compound	R^2 on the range LOQ-200ng.g^{-1}	IQL	MQL	average intra-day preparation recoveries (%) (n=3)			average intra and inter-days preparation recoveries (%) (n=9)			average quantification recoveries (%) (n=3)	
		(pg)	(ng.L^{-1})	absolute	relative	RSD (%)	absolute	relative	RSD (%)	relative	RSD (%)
Other commonly consumed drugs and their metabolites (continued)											
diclofenac	0.9979	20	1.0	182	101	± 1	185	102	± 4	105	± 6
2-hydroxyibuprofen	0.9960	17	0.9	97	76	± 3	104	75	± 5	46	± 34
ibuprofen	0.9998	23	1.2	136	106	± 4	141	101	± 6	103	± 5
ibuprofen glucuronide	0.9996	66	3.5	90	70	± 2	95	68	± 5	62	± 18
ketoprofen	0.9998	2	0.1	119	106	± 5	123	109	± 5	100	± 2
ketoprofen glucuronide	1.0000	334	17.8	71	63	± 20	68	49	± 17	63	± 40
naproxen	0.9997	12	0.6	117	100	± 3	126	105	± 7	104	± 2
naproxen glucuronide	0.9996	164	8.7	86	73	± 6	83	60	± 13	63	± 9

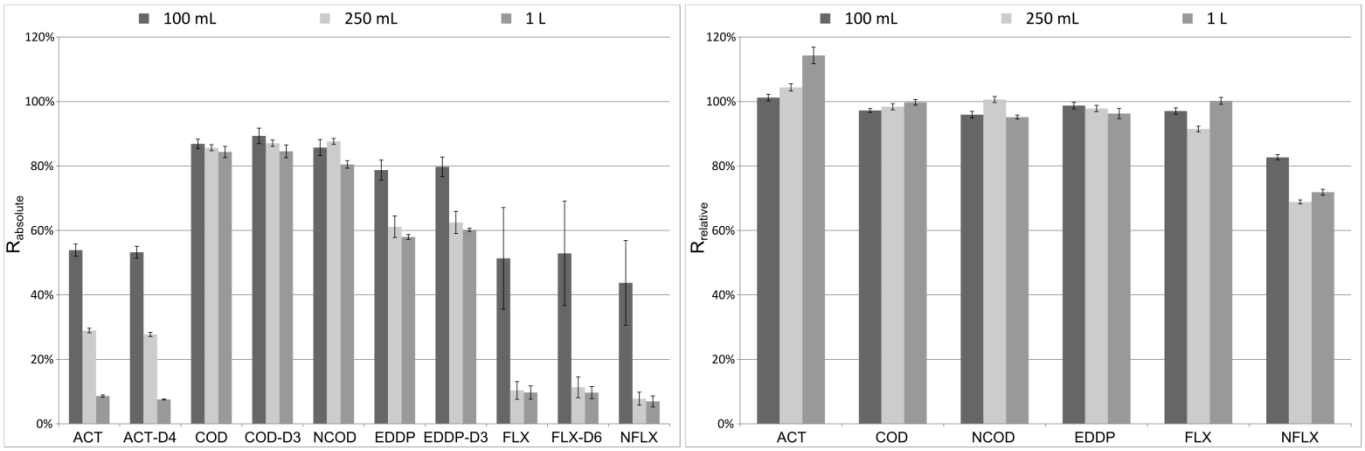
Regarding other compounds, available occurrence data from literature indicate that obtained MQL are relevant for environmental monitoring (Baker et al., 2013; Berset et al., 2010; Boleda et al., 2009; Mompelat et al., 2009; van Nuijs et al., 2009a; Postigo et al., 2008; Togola et al., 2008a) as well as drinking water analysis (Boleda et al., 2009; Mompelat et al., 2009; Togola et al., 2008a).

Absolute recoveries of the preparation procedure were of 88% in mean value and ranged between 45 and 125% with reported coefficients of variation of repeatability lower than 10% for 64 out of 69 analytes (Table 1). These results were considered satisfying regarding number and heterogeneity of analytes. As an exemple, a 81±3% recovery was found for EDDP whereas reported value in literature for multi-residus analysis were lower: 54±4% and 60±7% with methods respectively using MCX (Baker et al., 2011a) and HLB (Boleda et al., 2007) sorbents. Anti-alzheimer drugs showed absolute recoveries between 72 and 111% with coefficients of variation of repeatability lower than 6%. They were from 64 to 104% with coefficients of variation of repeatability lower than 4% for glucuronide conjugates from *O*-desmethylvenlafaxine, oxazepam, codeine, buprenorphine and of 94±2% and 83±3% for zolpidem 6-carboxylic and phenyl-4-carboxylic acids respectively. Intermediate precision of the optimized method is also satisfying considering intra and inter days (n=9) preparation recoveries estimated with coeficients of variations lower than 10% for 57 out of 69 compounds and only three above 21% (mephedrone, morphine-3-β-glucuronide and carboxyibuprofen).

Finally quantification recoveries indicate high reliability of the optimized method with a mean value of 97% with a mean coeficient of variation of 8% in intermediate precision conditions (Table 1). Adopted step by step method development appeared to insure such performances for most of the investigated analytes and only 8 compounds presented lower ones than the average resulting in the ermergence of 2 sets of analytes. The first one is composed with the great majority of investigated molecules (61 out of 69) for which method performances are good in terms of sensitivity, recovery, repeatability and intermediate precision and for which quantification process will lead to reliable data (*e.g.*: anti-Alzheimers, anti-convulsants, benzodiazepines and illicit drugs). The second set of compounds gathers molecules for which method did not allow to reach such performances. This drawback is inherent to the challenge of multi-residue analyses with versatile molecules. This second set of compounds includes glucuronides conjugates (from acetaminophen, naproxen, ketoprofen) as well as morphine-3-β- and -6-β- glucuronides, together with ibuprofen metabolites (carboxy- and 2-hydroxy- ibuprofen) and norfluoxetine. All these compounds were nevertheless kept under investigation in a goal of providing semi-quantitative or qualitative information.

Absolute preparation recoveries (n=3) at 500ng/L for percolated volumes of 100mL, 250mL and 1000mL using the optimized method for a selection of analytes is presented in Figure 5. Acetaminophen, EDDP, fluoxetine all displayed a dramatic decrease of recoveries as the percolated volume increased. Finally, no impact on quantification recoveries was observed as implementation of isotopic dilution corrected effectivly loss underwent by increasing percolated volume up to 1L. It has important consequences in environmental analysis if compromise can be found for molecules with low breakthrought volumes. Indeed, percolated volume can be then maximized in

order to raise quantification limits for analytes with almost constant recoveries over the range of percolated volumes such as codeine.
Average quantification recoveries (n=3) for a selection of compounds representative from the set of analytes are displayed in supplementary information (Figure S2). Concentration and concentration ratio in analytes/internal standards at high 250ng.L^{-1} and low 50ng.L^{-1} levels of spiking did not indicate any incidence on quantification and were coherent here above described performances.



ACT: acetaminophen, ACT-D4: acetaminophen-D4, COD: codeine, COD-D3: codeine-D3, NCOD: norcodeine, EDDP: 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-Diphenylpyrolidine, EDDP-D3 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrolidine-D3, FLX: fluoxetine, FLX-D6: fluoxetine-D6, NFLX: norfluoxetine

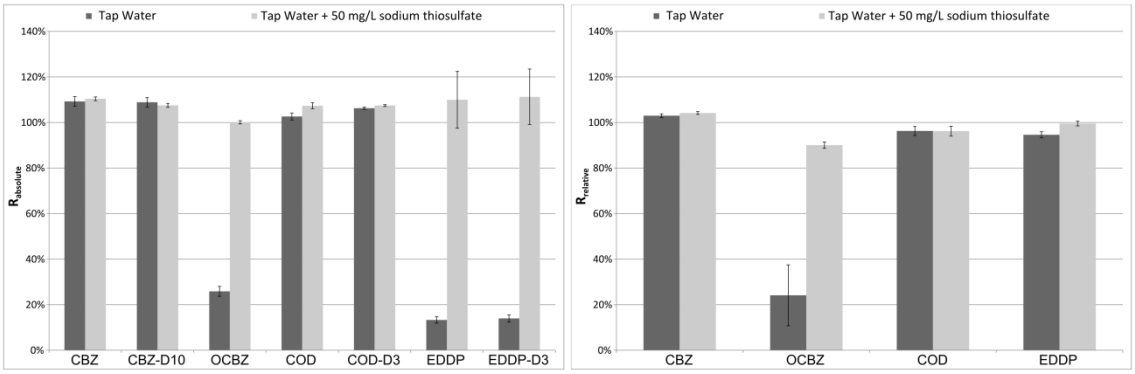
Fig. 5. Interest of isotopic dilution in compensating losses due to percolation volume: average and absolute recoveries (n=3) at 500ng/L for percolated volumes of 100mL, 250mL and 1000mL with Oasis® MCX sorbents at pH 3 for a selection of analytes.

Validation of initial performances of the optimized SPE-UPLC-MS/MS method demonstrated the potential applicability of the procedure for monitoring purposes.

3.2.2 Effect of water composition: Evian®, Vittel® and tap water

Comparable results were obtained in spiked Evian® and Vittel® waters regarding quantification recoveries and repeatability (data not shown) suggesting that difference of ionic charge between these waters yielded no impact in these conditions. Comparison between Evian® and tap water prepared with or without 50mg.L^{-1} sodium thiosulfate was then conducted. No evidence indicated any significant difference between Evian® water samples. On the contrary, oxcarbazepine and EDDP suffered significant loss (more than 70%) in tap water whereas samples with 50 mg.L^{-1} sodium thiosulfate presented similar recoveries than ones prepared in Evian® water. These results indicated that neutralizing dissolved chlorine is preventing for potential compound degradation in tap water matrices. In a method quantifying EDDP and others opioids in chlorinated water, Boleda *et al.* added sodium thiosulfate to the samples in order to prevent target compounds degradation (Boleda et al., 2009). Adjunction of 50mg.L^{-1} sodium thiosulfate in samples was therefore decided

compulsory in order to analyse the selected analytes in drinking waters. As it implied no deletary effects its presence in surface water samples could also be relevant in order to bind with chlorine, iodine, bromine or other oxidant potentially present.
Absolute and relative recoveries (n=3) for a selection of analytes and internal standards in tap water with and without adjunction of sodium thiosulfate are exhibited in Figure 6.



CBZ: carbamazepine, CBZ-D10: carbamazépine-D10, OCBZ: oxcarbazepine, COD: codeine, COD-D3: codeine-D3, EDDP: 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrolidine, EDDP-D3 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrolidine-D3

Fig. 6. Interest of isotopic dilution in compensating matrix effect in tap water for a selection of analytes: average absolute and relative recoveries (n=3).

Despite observed signal suppression due to matrix effect in tap water, quantification accuracy is ensured by suitable internal standard correction. As a consequence quantification recoveries (relative) were not impacted: EDDP's was of 95±1% whereas absolute recovery was of 13±1%. On the contrary, oxcarbazepine exhibited quantification recovery of 24±13% in tap water. As a matter of fact, no labelled analogue or internal standard behaving similarly could compensate losses underwent. However, addition of sodium thiosulfate in the samples enabled to compensate all matrix effects stessing out importance of the conducted step by step characterization in a goal to provide the most reliable results as possible.
These results also demonstrated ounce again interest of isotopic dilution for correcting matrix effects. This assessment is supported in literature. Bijlsma *et al.* reported observed ionization suppression in surface and waste waters for MDMA, cocaine and benzoylecgonine which were corrected thanks to labeled analogues (Bijlsma et al., 2009). Vanderford *et al.* showed that isotopic dilution compensate similar ion suppression for fluoxetine, norfluoxetine, meprobamate, carbamazepine, diazepam, diclofenac and naproxen in five different matrices including drinking, surface and waste waters (Vanderford et al., 2006).
Commercial availability and cost of labeled internal standards is an obstacle to isotopic dilution globalization even though its implementation, insofar as possible, is especially important regarding environmental sample on which exact composition of the matrix is unknown and changing from one sample to another. The lack of suitable matrix, which would be comparable to environmental samples, constitutes by the way the main

limitation of the previously described tests. Moreover, no stability was conduted here as experiments took place right after sampling. It should be noticed thought that when the campaign logistic doesn't not allow such schedule, stability of target compounds should be evaluated to insure the quality of the data (Mompelat et al., 2013).
The herein reported step by step approach is still valuable. As a matter of fact, performances and reliability of the quantifiaction process was demonstrated throughout the development and validation.

3.2.3 Demonstration of applicability for monitoring purposes

After, validation of initial performances of the optimized method, a first environmental screening as been conducted in the Seine River at four locations upstream and along its course through the city of Paris. Average concentrations and frequency of detection of measured compounds are shown in Table 2. Identification of targeted analytes was confirmed by all of the 4 identifcation points as described in section 3.1.1. For acetaminophen, ibuprofen and diclodenac, labelled analogues' retention times was used as a confirmation.
Out of 69 analytes, 22 psychotropic compounds and 5 other drugs used as anthorpic indicators were detected. Among them 7 were quantified above 10 $ng.L^{-1}$, 5 were psychotropic compounds including parent compounds as well as metabolites and/or metabolites also used as parent compounds (gabapentin, oxazepam, tramadol, *O*-desmethylvenlafaxine and 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepine) the 2 others being drugs used as anthopric indicators (acetaminophen and diclofenac).
6 other psychtropic molecules and 3 NSAIDs were measured between 1 and 5 $ng.L^{-1}$. Finaly, 11 others analytes were measured at concentration below 1 $ng.L^{-1}$ amoung which 1 anti-Alzheimer drug, 7 benzodiazepines, 1 hypnotic drug and 2 opioids.
To the authors' knowledge it is the first reported environmental characterization of anti-Alzheimer memantine in surface water. Grabic *et al.* reported up to 25 ng/L in Swedish wastewaters effluents (Grabic et al., 2012). Measured concentrations are in the same order of magnitude than those reported in Hérault watershed for carbamazepine, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen and acetaminophen (Togola et al., 2008a). Moreover, cocaine's metabolite, benzoylecgonine has quantified for the first time in French surface waters eventhough it was previously reported in wastewater of the Paris area (Karolak et al., 2010; Nefau et al., 2013). Reported illicit drugs levels (cocaine, benzoylecgonine and MDMA) were lower than those reported in other countries (Huerta-Fontela et al., 2008b; van Nuijs et al., 2009a; Postigo et al., 2010; Zuccato et al., 2008) which could be explained by the fact that no important WWTP was impacting sampling points. Nevertheless, interest of the monitoring strategy was demonstrated and the necessity to scrutinize for metabolites together with parent compounds was stressed out. Some of them like O-desmethylvenlafaxine, 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepine being quantified in higher amounts than their parent compounds.
Finaly, results of this first sampling campaing desmonstrated applicability for monitoring purposes.

Table 2
Measured concentrations and frequence of detection of monitored compounds in 4 river water samples

compound	min. measured concentration (ng/L)	max. measured concentration (ng/L)	frequency of detection (%)
Anti-alzheimers			
memantine	0.3	0.4	100%
Anticonvulsants and their metabolites			
carbamazepine	4.7	7.9	100%
gabapentin	20.5	36.1	100%
oxcarbazepine	0.4	1.5	100%
10,11-dihydro-10,11-dihydroxy-carbamazepine	6.5	13.0	100%
Antidepressants and their metabolites			
citalopram	0.8	1.5	100%
O-desmethylvenlafaxine	6.8	12.4	100%
venlafaxine	2.9	5.6	100%
Benzodiazepines, *"Z-drugs"* and their metabolites			
bromazepam	0.2	0.2	75%
diazepam	<MQL	<MQL	100%
lorazepam	0.4	0.7	75%
nordazepam-clorazepate	0.2	0.4	100%
oxazepam	8.2	11.8	100%
prazepam	0.1	0.2	100%
tetrazepam	0.1	0.3	100%
zolpidem	<MQL	<MQL	100%
Illicit drugs and their metabolites			
benzoylecgonine	0.5	1.1	100%
Opioids and their metabolites			
codeine	3.1	5.7	100%
EDDP	0.5	0.9	100%
morphine	0.5	0.8	100%
tramadol	12.4	21.2	100%
Other commonly consumed drugs and their metabolites			
acetaminophen	50.7	131.8	100%
diclofenac	7.6	16.3	100%
ibuprofen	4.5	7.2	100%
ketoprofen	3.6	5.9	100%
naproxen	3.2	7.2	100%

4. Conclusion and perspectives

A step by step development of a multi-residue method for scrutinizing the occurrence of psychotropic compounds in continental and drinking waters was described. This method was aiming at characterizing 69 analytes among which parent compounds and metabolites of anti-Alzheimer drugs, antidepressants, benzodiazepines, opiates and opioids, anticonvulsants, illicit drugs as well as other drugs of common usage used as indicators. Attention was drawn on methodological key points in order to insure reliability of generated data. The adopted step by step approach enabled to optimise some relevant stages of the measurement procedure. As a result, absolute recoveries >70% with coeficient of variation <10% in intermediate precision conditions were obtained for the majority of analytes (49 out of 69). Limit of quantifications were generaly <1ng.L^{-1} and were <5ng.L^{-1} almost all compounds (61 out of 69). Implementation of isotopic dilution was recommended on the bases of the evaluated validation parameters in order to compensate potential losses during analytical procedure. Finally, rigorous metrological development enabled to insure reliability and optimum performances for 63 out of 69 compounds which fits the initial purpose of the low ng.L^{-1} analysis of dissolved fraction of continental and drinking waters. Applicability was demonstrated over environmental river samples and led to the characterization of 22 psychtropic compounds and 5 over-the-counter drugs. In particular, to the author's knowledge memantine and benzoylecgonine was measured for the first time in France in this kind of waters.

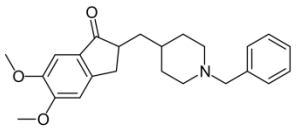
Further monitoring programs will also be conducted in a goal of providing a more comprehensive evaluation of contamination of the Seine River by these emerging pollutants. Moreover, stability and matrix effect studies will be performed so as to define broader conditions of application for the method. Further analytical developments are also ongoing in order to provide reference methods for the characterization of emerging psychotropic compounds in the aquatic environment.

Acknowlegment

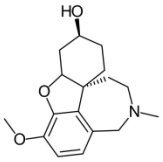
The authors acknowledge Gwenaelle Lavison and all collaborators from "Eau de Paris" for their support during sampling campaign. Vincent Brieudes would like to thank LNE (Laboratoire National de Métrologie et d'Essais), and ANRT (Association Nationale de la Recherche Technique) for funding his PhD work.

Supplementary Information

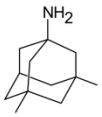
Anti-alzheimers



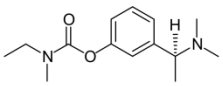
donepezil (DNP)
$C_{24}H_{29}NO_3$
CAS: 120014-06-4
M = 379.49 g.mol^{-1}



galantamine (GLT)
$C_{17}H_{21}NO_3$
CAS: 357-70-0
M = 287.35 g.mol^{-1}

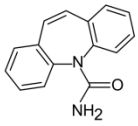


memantine (MMT)
$C_{12}H_{21}N$
CAS: 19982-08-2
M = 179.30 g.mol^{-1}

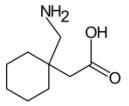


rivastigmine (RVS)
$C_{14}H_{22}N_2O_2$
CAS: 123441-03-2
M = 250.34 g.mol^{-1}

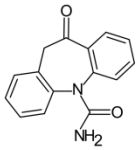
Anticonvulsants and their metabolites



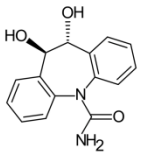
carbamazepine (CBZ)
$C_{15}H_{12}N_2O$
CAS: 298-46-4
M = 236.27 g.mol^{-1}



gabapentin (GBP)
$C_9H_{17}NO_2$
CAS: 60142-96-3
M = 171.24 g.mol^{-1}

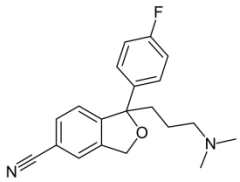


oxcarbazepine (OCBZ)
$C_{15}H_{12}N_2O_2$
CAS: 28721-07-5
M = 252.27 g.mol^{-1}

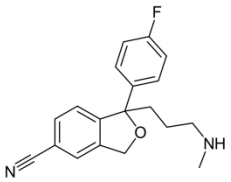


trans-10,11-dihydro-10,11-dihydroxy-carbamazepine (HCBZ)
$C_{15}H_{14}N_2O_3$
CAS: 58955-93-4
M = 270.29 g.mol^{-1}

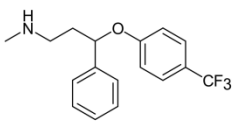
Antidepressants and their metabolites



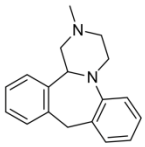
citalopram (CIT)
$C_{20}H_{21}FN_2O$
CAS: 59729-33-8
M = 324.39 g.mol^{-1}



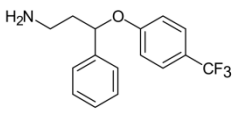
desmethylcitalopram (DCIT)
$C_{19}H_{19}FN_2O$
CAS: 62498-67-3
M = 310.37 g.mol^{-1}



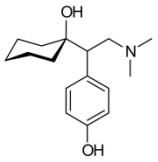
fluoxetine (FLX)
$C_{17}H_{18}F_3NO$
CAS: 54910-89-3
M = 309.33 g.mol^{-1}



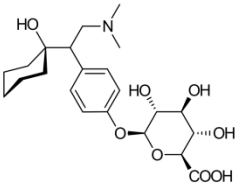
mianserin (MSR)
$C_{18}H_{20}N_2$
CAS: 24219-97-4
M = 264.36 g.mol^{-1}



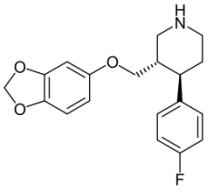
norfluoxetine (NFLX)
$C_{16}H_{16}F_3NO$
CAS: 83891-03-6
M = 295.30 g.mol^{-1}



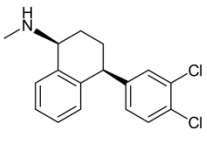
***O*-desmethylvenlafaxine (DVLX)**
$C_{16}H_{25}NO_2$
CAS: 93413-62-8
M = 236.38 g.mol^{-1}



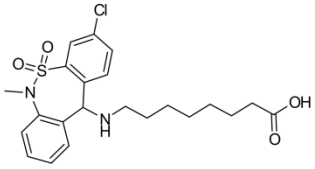
***O*-desmethylvenlafaxine glucuronide (DVLX-glu)**
$C_{22}H_{33}NO_8$
CAS: 102193-98-1
M = 439.50 g.mol^{-1}



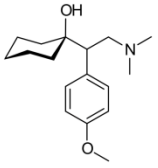
paroxetine (PRX)
$C_{19}H_{20}FNO_3$
CAS: 61869-08-7
M = 329.36 g.mol^{-1}



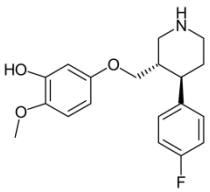
sertraline (SER)
$C_{17}H_{17}Cl_2N$
CAS: 79617-96-2
M = 306.23 g.mol^{-1}



tianeptine (TNP)
$C_{21}H_{25}ClN_2O_4S$
CAS: 66981-73-5
M = 436.95 g.mol^{-1}

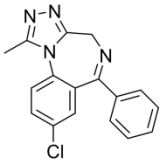


venlafaxine (VLX)
$C_{17}H_{27}NO_2$
CAS: 93413-69-5
M = 277.40 g.mol^{-1}

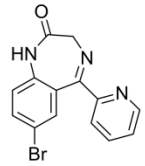


(-)-trans-4-[4-(4'-fluorophenyl)-3-piperidinylmethoxy] -2-methoxyphenol (MPRX)
$C_{19}H_{22}FNO_3$
CAS: 112058-90-9
M = 331.38 g.mol^{-1}

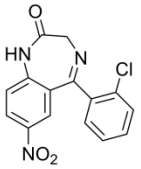
Benzodiazepines, *"Z-drugs"* and their metabolites



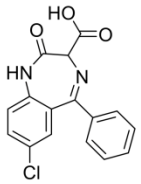
alprazolam (ALP)
$C_{17}H_{13}ClN_4$
CAS: 28981-97-7
M = 308.77 g.mol^{-1}



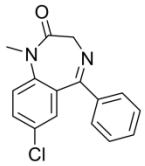
bromazepam (BMZ)
$C_{14}H_{10}BrN_3O$
CAS: 1812-30-2
M = 316.16 g.mol^{-1}



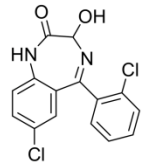
clonazepam (CLZ)
$C_{15}H_{10}ClN_3O_3$
CAS: 1622-61-3
M = 315.72 g.mol^{-1}



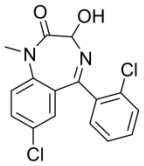
clorazepate (CZP)
$C_{16}H_{11}ClN_2O_3$
CAS: 23887-31-2
M = 314.73 g.mol^{-1}



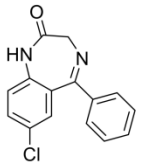
diazepam (DIA)
$C_{16}H_{13}ClN_2O$
CAS: 439-14-5
M = 284.75 g.mol^{-1}



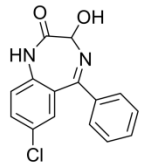
lorazepam (LRZ)
$C_{15}H_{10}Cl_2N_2O_2$
CAS: 846-49-1
M = 321.17 g.mol^{-1}



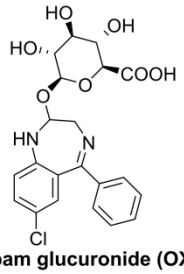
lormetazepam (LMZ)
$C_{16}H_{12}Cl_2N_2O_2$
CAS: 848-75-9
M = 335.19 g.mol^{-1}



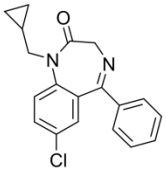
nordazepam (NDZ)
$C_{15}H_{11}ClN_2O$
CAS: 1088-11-5
M = 270.72 g.mol^{-1}



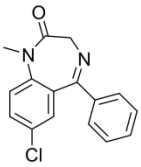
oxazepam (OXA)
$C_{15}H_{11}ClN_2O_2$
CAS: 604-75-1
M = 286.72 g.mol^{-1}



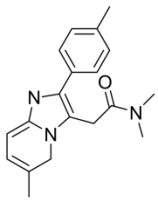
oxazepam glucuronide (OXA-glu)
$C_{21}H_{19}ClN_2O_8$
CAS: 6801-81-6
M = 462.84 g.mol^{-1}



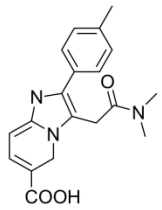
prazepam (PRA)
$C_{19}H_{17}ClN_2O$
CAS: 2955-38-6
M = 324.81 g.mol^{-1}



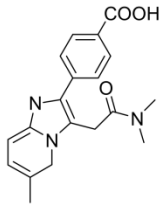
tetrazepam (TTZ)
$C_{16}H_{17}ClN_2O$
CAS: 10379-14-3
M = 288.78 g.mol^{-1}



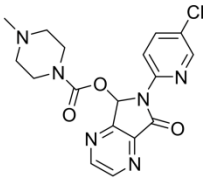
zolpidem (ZLP)
$C_{19}H_{21}N_3O$
CAS: 82626-48-0
M = 307.39 g.mol^{-1}



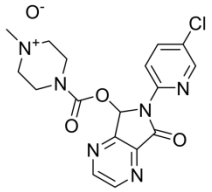
zolpidem 6-carboxylic acid (ZLP-6A)
$C_{19}H_{19}N_3O_3$
CAS: 109461-15-6
M = 337.37 g.mol^{-1}



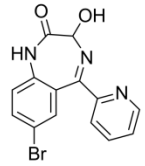
zolpidem phenyl-4-carboxylic acid (ZLP-4A)
$C_{19}H_{19}N_3O_3$
CAS: 109461-65-6
M = 337.37 g.mol^{-1}



zopiclone (ZOP)
$C_{17}H_{17}ClN_6O_3$
CAS: 43200-80-2
M = 381.81 g.mol^{-1}

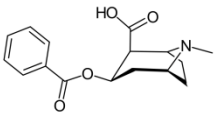


zopiclone-N-oxide (ZOP-N-ox.)
$C_{17}H_{17}ClN_6O_4$
CAS: 43200-96-0
M = 404.81 g.mol^{-1}

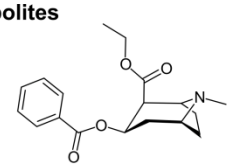


3-hydroxybromazepam (3-HBZ)
$C_{14}H_{10}BrN_3O_2$
CAS: 13132-73-5
M = 332.15 g.mol^{-1}

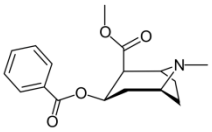
Illicit drugs and their metabolites



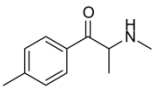
benzoylecgonine (BZL)
$C_{16}H_{19}NO_4$
CAS: 519-09-5
M = 289.33 g.mol^{-1}



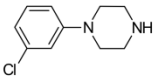
cocaethylene (COCE)
$C_{18}H_{23}NO_4$
CAS: 529-38-4
M = 317.38 g.mol^{-1}



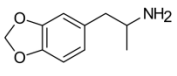
cocaine (COC)
$C_{17}H_{21}NO_4$
CAS: 50-36-2
M = 303.35 g.mol^{-1}



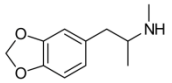
mephedrone (MPD)
$C_{11}H_{15}NO$
CAS: 1189805-46-6
M = 177.24 g.mol^{-1}



***meta*-chlorophenylpiperazine (mCPP)**
$C_{10}H_{13}ClN_2$
CAS: 6640-24-0
M = 196.68 g.mol^{-1}

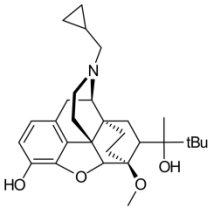


3,4-methylenedioxy-amphetamine (MDA)
$C_{10}H_{13}NO_2$
CAS: 4764-17-4
M = 179.22 g.mol^{-1}

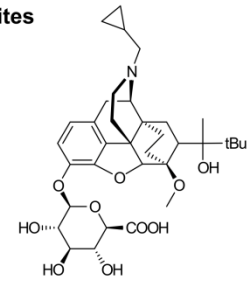


3,4-methylenedioxy-methylamphetamine (MDMA)
$C_{11}H_{15}NO_2$
CAS: 42542-10-9
M = 193.24 g.mol^{-1}

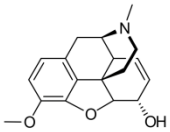
Opioids and their metabolites



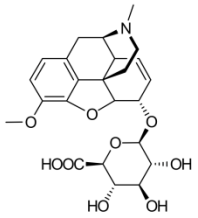
buprenorphine (BUP)
$C_{29}H_{41}NO_4$
CAS: 52485-79-7
M = 467.67 g.mol^{-1}



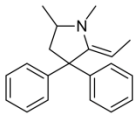
buprenorphine-3-β-glucuronide (BUP-glu)
$C_{35}H_{49}NO_{10}$
CAS: 101224-22-0
M = 643.77 g.mol^{-1}



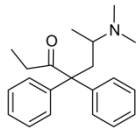
codeine (COD)
$C_{18}H_{21}NO_3$
CAS: 76-57-3
M = 299.36 g.mol^{-1}



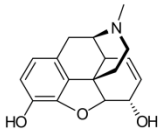
codeine-6-β-glucuronide (COD-glu)
$C_{24}H_{29}NO_9$
CAS: 20736-11-2
M = 475.49 g.mol^{-1}



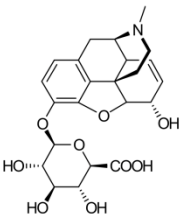
2-ethylidene-1,5-dimethyl -3,3-diphenylpyrrolidine (EDDP)
$C_{20}H_{23}N$
CAS: 30223-73-5
M = 277.41 g.mol^{-1}



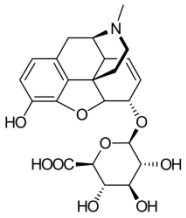
methadone (MTH)
$C_{21}H_{27}NO$
CAS: 76-99-3
M = 309.45 g.mol^{-1}



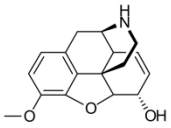
morphine (MPH)
$C_{17}H_{19}NO_3$
CAS: 57-27-2
M = 285.34 g.mol^{-1}



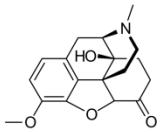
morphine-3-β-glucuronide (M3G)
$C_{23}H_{27}NO_9$
CAS: 20290-09-9
M = 461.47 g.mol^{-1}



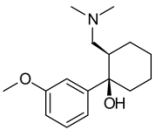
morphine-6-β-glucuronide (M6G)
$C_{23}H_{27}NO_9$
CAS: 20290-10-2
M = 461.47 g.mol^{-1}



norcodeine (NCOD)
$C_{17}H_{19}NO_3$
CAS: 467-15-2
M = 285.34 g.mol^{-1}

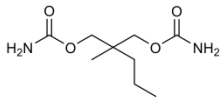


oxycodone (OXY)
$C_{18}H_{21}NO_4$
CAS: 76-42-6
M = 315.37 g.mol^{-1}



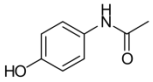
tramadol (TMD)
$C_{16}H_{25}NO_2$
CAS: 27203-92-5
M = 263.38 g.mol^{-1}

Other

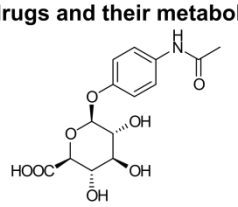


meprobamate (MPB)
$C_9H_{18}N_2O_4$
CAS: 57-53-4
M = 218.25 g.mol^{-1}

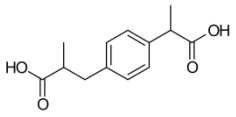
Other commonly consumed drugs and their metabolites



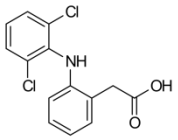
acetaminophen (ACT)
$C_8H_9NO_2$
CAS: 103-90-2
M = 151.16 g.mol^{-1}



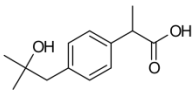
acetaminophen glucuronide (ACT-glu)
$C_{14}H_{17}NO_8$
CAS: 16110-10-4
M = 327.29 g.mol^{-1}



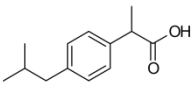
carboxyibuprofen (CIBU)
$C_{13}H_{16}O_4$
CAS: 15935-54-3
M = 236.27 g.mol^{-1}



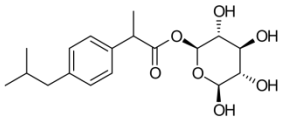
diclofenac (DCF)
$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$
CAS: 15307-86-5
M = 296.15 g.mol^{-1}



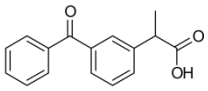
2-hydroxy ibuprofen (HIBU)
$C_{13}H_{18}O_3$
CAS: 51146-55-5
M = 222.28 g.mol^{-1}



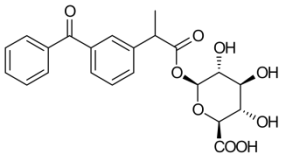
ibuprofen (IBU)
$C_{13}H_{18}O_2$
CAS: 15687-27-1
M = 206.28 g.mol^{-1}



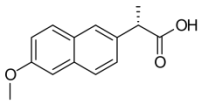
ibuprofen acyl-β-D-glucuronide (IBU-glu)
$C_{19}H_{26}O_8$
CAS: 115075-59-7
M = 382.41 g.mol^{-1}



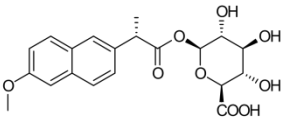
ketoprofen (KET)
$C_{16}H_{14}O_3$
CAS: 22071-15-4
M = 254.28 g.mol^{-1}



ketoprofen
acyl-β-D-glucuronide (KET-glu)
$C_{25}H_{26}O_9$
CAS: 76690-94-3
M = 430.41 g.mol^{-1}

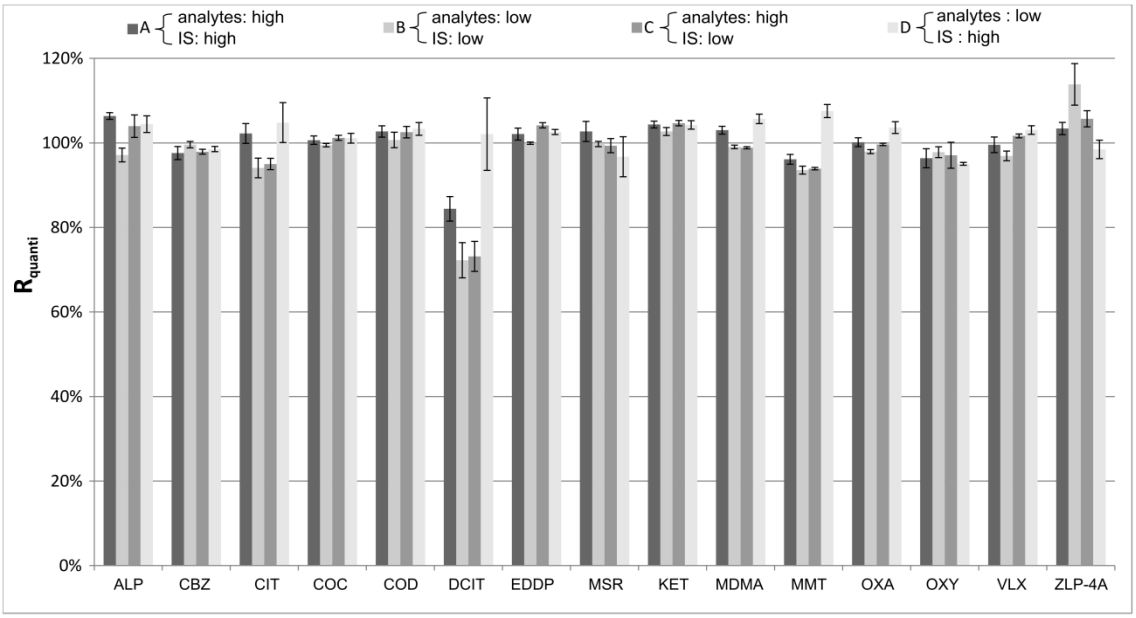


naproxen (NPX)
$C_{14}H_{14}O_3$
CAS: 22204-53-1
M = 230.26 g.mol^{-1}



naproxen
acyl-β-D-glucuronide (NPX-glu)
$C_{20}H_{22}O_9$
CAS: 41945-43-1
M = 406.38 g.mol^{-1}

Figure S1 Structures of the selected analytes



ALP: alprazolam, CBZ: carbamazepine, CIT: citalopram, COC: cocaine, COD: codeine, DCIT: desmethylcitalopram, EDDP: 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrolidine, MSR: mianserin, KET: ketoprofen, MDMA: 3,4-methylenedioxy-methylamphetamine, MMT: memantine, OXA: oxazepam, OXY: oxycodone, VLX: venlafaxine, ZLP-A4: zolpidem 4-phenyl-carboxylic acid

Figure S2 Average quantification recoveries (n=3) for a selection of compounds at high (250 $ng.L^{-1}$) and low (50 $ng.L^{-1}$) levels of spiking in analytes and internal standard

compound	salt	additional information				
		CAS	pKa*	log K_{ow}*	purity (%)	supplier
Anti-alzheimers						
donepezil	donepezil.HCl	120011-70-3	8.7	3.87	98	LGC Standards
galantamine	galantamine.HBr	1953-04-4	8.9	1.28	96	LGC Standards
memantine	memantine.HCl	41100-52-1	10.5	3.56	98	LGC Standards
rivastigmine	rivastigmine.$C_4H_6O_6$	129101-54-8	8.6	2.35	98	LGC Standards
Anticonvulsants and their metabolites						
carbamazepine		298-46-4	14.3	2.17	99.9	LGC Standards
gabapentine		60142-96-3	3.8-10.4	1.03	98	LGC Standards
oxcarbazepine		28721-07-5	14.2	2	99	LGC Standards
10,11-dihydro-10,11-dihydroxy-carbamazepine		58955-93-4	12.7	0.71	97.5	LGC Standards
Antidepressants and their metabolites						
citalopram	citalopram.HBr	59729-32-7	9.4	3.72	99.874	Lipomed
desmethylcitalopram	desmethylcitalopram.HCl	144025-14-9	10.5	3.32	98	LGC Standards
fluoxetine	fluoxetine.HCl	59333-67-4	9.6	4.35	98	LGC Standards
mianserine	mianserine.HCl	21535-47-7	8.3	3.57	98	LGC Standards
norfluoxetine		83891-03-6	9.2	3.63	99.4	LGC Standards
O-desmethylvenlafaxine		93413-62-8	8.4-10.1	2.93	97	LGC Standards
O-desmethylvenlafaxine glucuronide		1021933-98-1	2.9-8.4	0.06	98	LGC Standards
paroxetine	paroxetine.HCl	78246-49-8	9.7	3.57	98	LGC Standards
paroxetine metabolite[a]		112058-90-9	9.3-10.3	3.28	98	LGC Standards
sertraline	sertraline.HCl	79559-97-0	9.5	5.15	98	LGC Standards
tianeptine		66981-73-5	4.8-7.1	3.82	98	LGC Standards
venlafaxine	venlafaxine.HCl	99300-78-4	8.4	3.33	99.79	Lipomed
Benzodiazepines, *"Z-drugs"* and their metabolites						
alprazolam		28981-97-7	5.7	2.65	99.97	Lipomed
bromazepam		1812-30-2	2.68-12.24	2.18	99.797	Lipomed
clonazepam		1622-61-3	2.1-10.6	2.57	99.95	Lipomed
clorazepate	clorazepate.K_2	57109-90-7	0.7-3.3	2.37	99.833	Lipomed
diazepam		439-14-5	3.4	3.11	99.98	Lipomed
lorazepam		846-49-1	1-11.3	2.5	99.95	Lipomed
lormetazepam		848-75-9	1-13.6	2.61	99.937	Lipomed
nordazepam		1088-11-5	3.4-11.3	2.89	>99	Sigma Aldrich
oxazepam		604-75-1	1.8-11.5	2.01	99.865	Lipomed
oxazepam glucuronide		NA*	1.2-3.0	0.2	98.6	LGC Standards
prazepam		2955-38-6	3.4	3.49	99.922	Lipomed
tetrazepam		10379-14-3	3.8	3.5	99.15	Lipomed

zolpidem		82626-48-0	6.1	3.14	98	LGC Standards
zolpidem 6-carboxylic acid		109461-15-6	4-6.3	1.99	98	LGC Standards
zolpidem 4-phenyl-carboxylic acid		109461-65-6	3.4-6.3	2.63	98	LGC Standards
zopiclone		43200-80-2	6.8	1.14	98	LGC Standards
zopiclone-N-oxyde		43200-96-0	4.3	-0.49	98	LGC Standards
3-hydroxybromazepam		13132-73-5	5.3	2.13	98	LGC Standards
Illicit drugs and their metabolites						
benzoyecgonine	benzoyecgonine.$(H_2O)_4$	5928-96-1	2.9-9.2	2.03	98	LGC Standards
cocaethylene		529-38-4	8.6	2.9	99.5	Sigma Aldrich
cocaine		50-36-2	8.6	2.64	99	Sigma Aldrich
mephedrone	mephedrone.HCl	1189726-22-4	8.5	1.91	99.852	Lipomed
mCPP	mCPP.HCl	13078-15-4	8.5	2.09	99.6	LGC Standards
MDA	MDA.HCl	13673-99-9	9.5	1.62	99.6	Sigma Aldrich
MDMA	MDMA.HCl	64057-70-1	9.9	1.99	98.6	Sigma Aldrich
Opiods and their metabolites						
buprenorphine	buprenorphine.HCl	53152-21-9	8.3-9.8	4.88	99.855	Lipomed
buprenorphine-3-β-glucuronide		NA[b]	2.9-8.4	2.46	99.3	LGC Standards
codeine	codeine.HCl	1422-07-7	8.2	1.22	99.62	Lipomed
codeine-6-β **-**glucuronide	codeine-6-β **-**glucuronide.Na	20736-11-2	2.8-8.2	-0.63	97	LGC Standards
EDDP	EDDP.ClO_4	66729-78-0	8.8	5.01	99.825	Lipomed
methadone	methadone.HCl	1095-90-5	8.7	4.53	99.989	Lipomed
morphine	morphine.H_2O	6009-81-0	8.2-9.7	0.79	93.9	LGC Standards
morphine-3-β-glucuronide	morphine-3-β-glucuronide.H_2O	20290-09-9	2.9-8.2	-1.26	99.322	Lipomed
morphine-6-β-glucuronide	morphine-6-β-glucuronide.H_2O	20290-10-2	3.3-8.1	0.09	98.3	Lipomed
norcodeine		467-15-2	9.1	0.87	>89	LGC Standards
oxycodone	oxycodone.HCl	124-90-3	8.1	0.62	99.982	Lipomed
tramadol	tramadol.HCl	22204-88-2	9.2	2.55	98	LGC Standards
Other						
meprobamate		57-53-4	11.7	0.87	>99	Sigma Aldrich
Other commonly consumed drugs and their metabolites						
acetaminophen		103-90-2	1.7-9.9	0.43	>98	Sigma Aldrich
acetaminophen glucuronide	p-acetamidophenylb-D-glucuronide.Na	120595-80-4	1.6-2.9	-1.33	>98	Sigma Aldrich
carboxyibuprofene		15935-54-3	4.1	2.15	99.4	Sigma Aldrich
diclofenac	diclofenac.Na	15307-79-6	4.4	4.61	99.8	LGC Standards
2-hydroxyibuprofen		51146-55-5	4.3	2.73	99.1	Sigma Aldrich
ibuprofen		15687-27-1	4.3	3.21	99.7	LGC Standards
ibuprofen glucuronide	ibuprofen acyl-β-glucuronide	115075-59-7	2.9	0.54	92.5	Sigma Aldrich
ketoprofen		22071-15-4	4.1	3.27	99.9	Sigma Aldrich

ketoprofen glucuronide	ketoprofen acyl-β-glucuronide	76690-94-3	3.2	0.4	97	LGC Standards
naproxen		22204-53-1	4.4	2.98	99.9	Sigma Aldrich
naproxen glucuronide	naproxen acyl-β-glucuronide	41945-43-1	2.9	0.41	98	LGC Standards
Internal standards						
acetaminophen-D4		64315-36-2			98	LGC Standards
acetaminophen glucuronide-D3	4-acetamidophenyl-b-D-glucuronide-d3.Na	NA[b]			98	LGC Standards
alprazolam-D5		125229-61-0			99.656	Lipomed
benzoyecgonine-D3	benzoyecgonine-D3.H_2O	115732-68-8			99.884	Lipomed
bromazepam-D4		NA[b]			97	LGC Standards
carbamazepine-D10		132183-78-9			>99%	Cluzeau Info Labo
cocaïne-D3		65266-73-1			99.742	Lipomed
codeine-D3		70420-71-2			99	LGC Standards
codeine glucuronide-D3	codeine-6-β-glucuronide-D3.Na	NA[b]			98	LGC Standards
diazepam-D5		65854-76-4			99.92	Lipomed
diclofenac-D4		153466-65-0			>99%	Cluzeau Info Labo
EDDP-D3	EDDP-D3.ClO_4	136765-23-6			98.1	LGC Standards
fluoxetine-D6	fluoxetine-D6.HCl	NA[b]			99.36	Lipomed
ibuprofen-D3		121662-14-4			98	LGC Standards
ketoprofen-13CD3		NA[b]			98	LGC Standards
MDA-D5	MDA-D5.HCl	136765-42-9			99.822	Lipomed
MDMA-D5	MDMA-D5.HCl	136765-43-0			99.838	Lipomed
meprobamate-D3		NA[b]			98	LGC Standards
methadone-D3	methadone-D3.HCl	118357-25-8			99.925	Lipomed
mianserine-D3		81957-76-8			99	LGC Standards
morphine-D3		67293-88-3			99.51	Lipomed
naproxen-D3		NA[b]			98	LGC Standards
nordazepam-D5		65891-80-7			99.471	Lipomed
O-desmethylvenlafaxine-D6		NA[b]			98	LGC Standards
oxazepam-D5		65854-78-6			99.975	Lipomed
oxycodone-D6	oxycodone-D6.HCl	152477-91-3			99.625	Lipomed
venlafaxine-D6	venlafaxine-D6.HCl	NA[b]			99.798	Lipomed
zolpidem-D6		NA[b]			99.3	LGC Standards

*: calculated using ACD/Percepta 14.0.0, Advanced Chemistry Development Inc. Toronto, ON, Canada. www.acdlabs.com
[a]: (-)-trans-4-[4-(4'-fluorophenyl)-3-piperidinylmethoxy]-2-methoxyphenol - [b]: non available

Table S1 Additional information on purchased standards

compound	retention time (min) [A or B][a]	ESI mode	percursor ion [cone voltage (V)]		quantification ion [collison energy (eV)]		confirmation ion [collison energy (eV)]		internal standard
Anti-alzheimers									
donepezil	**5.35** [B]	**+**	**380.4**	[42]	**91.0**	[35]	**243.2**	[27]	venlafaxine-D6
galantamine	**1.56** [A]	**+**	**288.2**	[29]	**198.1**	[31]	**213.1**	[22]	MDA-D5
memantine	**4.90** [B]	**+**	**180.3**	[24]	**163.2**	[16]	**107.1**	[24]	venlafaxine-D6
rivastigmine	**4.16** [A]	**+**	**251.0**	[21]	**206.1**	[16]	**85.9**	[23]	cocaine-D3
Anticonvulsants and their metabolites									
carbamazepine	**5.95** [B]	**+**	**237.0**	[29]	**194.2**	[19]	**192.2**	[19]	carbamazepine-D10
gabapentin	**2.35** [A]	**+**	**172.1**	[23]	**154.1**	[12]	**95.0**	[21]	MDA-D5
oxcarbazepine	**5.30** [B]	**+**	**253.3**	[23]	**236.1**	[19]	**208.1**	[27]	carbamazepine-D10
10,11-dihydro-10,11-dihydroxy-carbamazepine	**4.34** [B]	**+**	**271.3**	[12]	**180.1**	[26]	**253.1**	[8]	carbamazepine-D10
Antidepressants and their metabolites									
citalopram	**5.75** [A]	**+**	**325.1**	[30]	**109.0**	[24]	**262.1**	[19]	EDDP-D3
desmethylcitalopram	**5.65** [A]	**+**	**311.0**	[29]	**109.0**	[24]	**234.0**	[28]	bromazepam-D4
fluoxetine	**6.80** [B]	**+**	**310.3**	[14]	**148.1**	[8]	**44.1**	[9]	fluoxetine-D6
mianserin	**5.68** [A]	**+**	**265.0**	[31]	**208.1**	[22]	**118.1**	[30]	mianserin-D3
norfluoxetine	**6.65** [B]	**+**	**296.2**	[11]	**134.1**	[7]	**30.1**	[6]	fluoxetine-D6
O-desmethylvenlafaxine	**3.77** [A]	**+**	**264.3**	[22]	**58.0**	[17]	**133.0**	[26]	*O*-desmethylvenlafaxine-D6
O-desmethylvenlafaxine glucuronide	**2.74** [A]	**+**	**440.4**	[30]	**422.4**	[21]	**58.1**	[29]	*O*-desmethylvenlafaxine-D6
paroxetine	**6.18** [B]	**+**	**330.3**	[45]	**192.2**	[21]	**70.1**	[28]	fluoxetine-D6
paroxetine metabolite[b]	**5.08** [A]	**+**	**332.2**	[45]	**192.2**	[21]	**70.0**	[28]	venlafaxine-D6
sertraline	**6.91** [B]	**+**	**306.1**	[22]	**159.0**	[27]	**129.1**	[25]	fluoxetine-D6
tianeptine	**5.91** [A]	**+**	**437.2**	[19]	**292.0**	[18]	**228.1**	[37]	EDDP-D3
venlafaxine	**4.94** [B]	**+**	**278.2**	[20]	**121.0**	[27]	**215.1**	[17]	venlafaxine-D6
Benzodiazepines, *"Z-drugs"* and their metabolites									
alprazolam	**6.63** [A]	**+**	**309.1**	[43]	**281.1**	[26]	**205.1**	[38]	alprazolam-D5
bromazepam	**5.52** [A]	**+**	**316.2**	[37]	**182.1**	[30]	**209.1**	[26]	bromazepam-D4
clonazepam	**6.44** [A]	**+**	**316.0**	[40]	**270.4**	[26]	**213.9**	[36]	diazepam-D5
clorazepate	**6.87** [B]	**+**	**271.0**	[38]	**140.0**	[27]	**165.0**	[28]	nordazepam-D5
diazepam	**7.57** [A]	**+**	**285.0**	[36]	**154.0**	[27]	**193.2**	[30]	diazepam-D5
lorazepam	**6.49** [A]	**+**	**320.8**	[27]	**275.0**	[23]	**229.0**	[30]	oxazepam-D5
lormetazepam	**7.17** [A]	**+**	**334.9**	[25]	**289.0**	[21]	**262.1**	[26]	diazepam-D5

nordazepam	**6.87** [B]	**+**	**270.9**	[38]	**165.0**	[28]	**140.0**	[28]	nordazepam-D5
oxazepam	**6.33** [A]	**+**	**287.0**	[27]	**269.0**	[15]	**241.0**	[24]	oxazepam-D5
oxazepam glucuronide	**5.21** [A]	**+**	**463.3**	[20]	**287.1**	[17]	**269.1**	[26]	oxazepam-D5
prazepam	**8.79** [A]	**+**	**325.1**	[32]	**271.1**	[24]	**140.0**	[38]	oxazepam-D5
tetrazepam	**7.75** [A]	**+**	**289.0**	[36]	**197.0**	[32]	**225.1**	[29]	oxazepam-D5
zolpidem	**4.67** [B]	**+**	**308.4**	[41]	**235.2**	[34]	**263.2**	[25]	zolpidem-D6
zolpidem 6-carboxylic acid	**4.38** [B]	**+**	**338.6**	[23]	**265.2**	[35]	**293.2**	[26]	zolpidem-D6
zolpidem 4-phenyl-carboxylic acid	**3.52** [B]	**+**	**338.6**	[24]	**265.2**	[36]	**293.2**	[26]	zolpidem-D6
zopiclone	**3.99** [B]	**+**	**389.3**	[16]	**245.1**	[21]	**345.2**	[9]	fluoxetine-D6
zopiclone-N-oxyde	**4.24** [B]	**+**	**405.3**	[19]	**143.1**	[13]	**245.1**	[22]	fluoxetine-D6
3-hydroxybromazepam	**4.91** [A]	**+**	**332.2**	[26]	**287.1**	[25]	**315.1**	[18]	bromazepam-D4
Illicit drugs and their metabolites									
benzoylecgonine	**3.57** [B]	**+**	**290.1**	[28]	**168.0**	[20]	**105.0**	[30]	benzoyecgonine-D3
cocaethylene	**5.06** [A]	**+**	**318.0**	[21]	**196.0**	[21]	**81.8**	[30]	cocaïne-D3
cocaïne	**4.47** [A]	**+**	**304.3**	[24]	**182.2**	[20]	**150.1**	[24]	cocaïne-D3
mephedrone	**3.44** [A]	**+**	**178.1**	[20]	**145.0**	[20]	**119.0**	[22]	MDMA-D5
mCPP	**4.12** [A]	**+**	**197.2**	[30]	**154.1**	[25]	**119.1**	[30]	MDA-D5
MDA	**2.90** [A]	**+**	**180.2**	[14]	**163.1**	[10]	**105.0**	[21]	MDA-D5
MDMA	**3.12** [A]	**+**	**194.1**	[19]	**162.9**	[13]	**105.1**	[23]	MDMA-D5
Opioids and their metabolites									
buprenorphine	**5.84** [B]	**+**	**468.2**	[58]	**396.1**	[40]	**101.0**	[46]	EDDP-D3
buprenorphine-3-β-glucuronide	**4.68** [B]	**+**	**644.5**	[58]	**468.5**	[59]			codeine-D3
codeine	**2.55** [B]	**+**	**300.2**	[39]	**215.2**	[26]	**165.2**	[40]	codeine-D3
codeine-6-β **-**glucuronide	**2.13** [B]	**+**	**476.3**	[44]	**300.2**	[30]	**165.1**	[54]	codeine glucuronide-D3
EDDP	**6.06** [A]	**+**	**278.2**	[44]	**249.1**	[24]	**234.1**	[31]	EDDP-D3
methadone	**6.69** [A]	**+**	**310.2**	[24]	**265.1**	[16]	**105.0**	[30]	methadone-D3
morphine	**0.87** [A]	**+**	**286.3**	[44]	**165.1**	[37]	**153.1**	[40]	morphine-D3
morphine-3-β -glucuronide	**0.56** [A]	**+**	**462.4**	[44]	**286.2**	[43]			morphine-D3
morphine-6-β -glucuronide	**0.77** [A]	**+**	**462.4**	[45]	**286.3**	[46]			morphine-D3
norcodeine	**2.34** [B]	**+**	**286.3**	[37]	**165.1**	[37]	**268.2**	[20]	codeine-D3
oxycodone	**2.93** [A]	**+**	**316.1**	[28]	**298.2**	[19]	**241.0**	[30]	oxycodone-D6
tramadol	**4.13** [A]	**+**	**264.2**	[20]	**58.0**	[16]	**246.2**	[12]	cocaïne-D3
Other									
meprobamate	**4.70** [A]	**+**	**219.1**	[12]	**157.8**	[11]	**97.0**	[20]	meprobamate-D3

Other commonly consumed drugs and their metabolites									
acetaminophen	**1.37** [B]	**+**	**152.1**	[29]	**110.0**	[17]			acetaminophen-D4
acetaminophen glucuronide	**0.68** [B]	**-**	**329.3**	[21]	**113.0**	[13]	**150.1**	[24]	acetaminophen glucuronide-D3
carboxyibuprofen	**5.50** [B]	**-**	**235.2**	[20]	**191.1**	[10]			ibuprofen-D3
diclofenac	**8.39** [B]	**-**	**294.0**	[17]	**250.0**	[12]			diclofenac-D4
hydroxyibuprofen	**5.36** [B]	**-**	**221.1**	[11]	**176.9**	[9]			ibuprofen-D3
ibuprofen	**8.58** [B]	**-**	**205.1**	[14]	**161.0**	[7]			ibuprofen-D3
ibuprofen glucuronide	**6.86** [A]	**-**	**381.3**	[21]	**193.0**	[15]	**205.2**	[15]	ibuprofen-D3
ketoprofen	**7.08** [A]	**+**	**255.1**	[20]	**209.0**	[14]	**105.0**	[23]	ketoprofen-13CD3
ketoprofen glucuronide	**5.75** [B]	**-**	**429.3**	[20]	**209.1**	[23]	**253.1**	[14]	ibuprofen-D3
naproxen	**7.11** [A]	**+**	**231.1**	[21]	**185.0**	[15]	**169.0**	[26]	naproxen-D3
naproxen glucuronide	**5.75** [B]	**-**	**405.1**	[16]	**192.9**	[17]	**185.0**	[20]	ibuprofen-D3
Internal standards									
acetaminophen-D4	**1.34** [B]	**+**	**156.1**	[30]	**114.0**	[18]			
acetaminophen glucuronide-D3	**0.68** [B]	**-**	**329.3**	[21]	**113.0**	[13]	**175.1**	[10]	
alprazolam-D5	**6.60** [A]	**+**	**314.1**	[40]	**286.1**	[27]	**205.1**	[39]	
benzoylecgonine-D3	**3.57** [B]	**+**	**293.1**	[28]	**171.1**	[20]	**105.0**	[30]	
bromazepam-D4	**5.49** [A]	**+**	**320.2**	[35]	**186.1**	[32]	**213.2**	[26]	
carbamazepine-D10	**5.90** [B]	**+**	**247.3**	[30]	**204.2**	[29]			
cocaine-D3	**4.47** [A]	**+**	**307.1**	[27]	**185.1**	[20]			
codeine-D3	**2.54** [B]	**+**	**303.3**	[39]	**215.1**	[26]	**164.9**	[40]	
codeine glucuronide-D3	**2.11** [B]	**+**	**479.3**	[44]	**303.2**	[31]	**165.1**	[54]	
diazepam-D5	**7.53** [A]	**+**	**290.2**	[36]	**154.0**	[26]	**198.2**	[30]	
diclofenac-D4	**8.36** [B]	**-**	**298.2**	[19]	**254.1**	[16]			
EDDP-D3	**6.05** [A]	**+**	**281.4**	[44]	**249.2**	[24]	**234.2**	[31]	
fluoxetine-D6	**6.78** [B]	**+**	**316.3**	[17]	**44.1**	[10]	**154.2**	[8]	
ibuprofen-D3	**8.57** [A+B]	**-**	**208.3**	[16]	**164.3**	[7]			
ketoprofen-13CD3	**7.07** [A]	**+**	**259.1**	[20]	**213.1**	[14]	**104.9**	[23]	
MDA-D5	**2.87** [A]	**+**	**185.1**	[17]	**168.1**	[11]	**138.1**	[17]	
MDMA-D5	**3.11** [A]	**+**	**199.1**	[19]	**165.0**	[13]	**107.0**	[23]	
meprobamate-D3	**4.69** [A]	**+**	**222.3**	[12]	**161.2**	[11]			
methadone-D3	**6.68** [A]	**+**	**313.3**	[24]	**268.3**	[16]	**105.0**	[30]	
mianserine-D3	**5.68** [A]	**+**	**268.4**	[34]	**208.2**	[22]	**61.1**	[25]	
morphine-D3	**0.86** [A]	**+**	**289.2**	[42]	**153.0**	[50]	**165.0**	[37]	

naproxen-D3	**7.09** [A]	**+**	**234.1**	[20]	**188.1**	[16]	**173.0**	[26]
nordazepam-D5	**6.84** [A]	**+**	**276.3**	[39]	**165.1**	[30]	**140.0**	[30]
O-desmethylvenlafaxine-D6	**3.74** [A]	**+**	**270.4**	[22]	**58.1**	[17]	**252.3**	[12]
oxazepam-D5	**6.30** [A]	**+**	**292.0**	[27]	**246.1**	[24]	**274.1**	[15]
oxycodone-D6	**2.90** [A]	**+**	**322.2**	[28]	**304.2**	[20]	**247.2**	[30]
venlafaxine-D6	**4.93** [B]	**+**	**284.4**	[20]	**58.1**	[17]	**121.1**	[28]
zolpidem-D6	**4.65** [A]	**+**	**314.4**	[44]	**235.2**	[42]	**263.2**	[33]

[a] analytical run A or B
[b](-)-trans-4-[4-(4'-Fluorophenyl)-3-piperidinylmethoxy]-2-methoxyphenol

Table S2 Retention times and optimized MRM conditions for the studied molecules and associated internal standards used for quantification

ions	concentration[a] (mg/L)	
	Evian®	**Vittel®**
calcium (Ca^{2+})	80	203.8
magnesium (Mg^{2+})	26	43.1
chloride (Cl^-)	6.8	8
sodium (Na^+)	6.5	5
potassium (K^+)	1	1.9
sulfate (SO_4^{2-})	12.6	328.9
bicarbonate (HCO_3^-)	360	399
nitrate (NO_3^-)	3.7	4.3
silica (SiO_2)	15	NA[b]
fluoride (F^-)	NA[b]	0.16

[a]: commercial information as reported on bottles' labels
[b]: non available

Table S3 Ionic composition of the investigated mineral waters

Chapitre 3

Développement d'une approche complémentaire par échantillonnage intégratif pour la caractérisation de l'occurrence des psychotropes dans les systèmes aquatiques

1. Enjeux de l'échantillonnage dans l'analyse des systèmes aquatiques 158
1.1. L'échantillonnage actif 158
1.2. L'échantillonnage passif 163
1.3. Echantillonneurs intégratifs de type POCIS pour l'analyse des composés sélectionnés 169

2. Méthode analytique pour l'étalonnage des POCIS en laboratoire 178
2.1. Molécules analysées 178
2.2. Analyse des eaux 179
2.3. Montage, extraction et analyse des POCIS 179
2.4. Caractérisation du rendement d'extraction de la phase adsorbante 180

3. Etalonnage en laboratoire de POCIS pour l'analyse des psychotropes sélectionnés 182
3.1. Conditions expérimentales 182
3.2. Plan de prélèvements 183
3.3. Résultats 183

4. Démonstration de l'applicabilité des POCIS à l'étude de l'occurrence de psychotropes et d'autres médicaments de consommation courante 191
4.1. Intérêt des POCIS pour la mise en évidence de la présence des molécules sélectionnées 191
4.2. Concentrations mesurées dans les POCIS 193
4.3. Concentrations moyennes en psychotropes estimées par l'approche POCIS 194

5. Bilan du développement d'une approche complémentaire par échantillonnage intégratif 198

Bibliographie 305

ANNEXE 3.1 – Techniques d'échantillonnage actif utilisées pour les analyses environnementales 348
ANNEXE 3.2 – Distribution des quantités mesurées entre les membranes et les échantillonneurs pour les analytes présentant un « lag time » 349

Ce chapitre discute des problématiques liées à l'échantillonnage dans les analyses environnementales. Puis il s'attache à présenter la stratégie par échantillonnage passif développée complémentairement à la méthode multi-résidus. Cette démarche constitue un des objectifs secondaires de ces travaux de thèse. Il s'agit d'une première évaluation de l'applicabilité ce type d'outils pour la caractérisation de l'occurrence des composés psychotropes recherchés dans l'environnement.

Afin d'alléger les écritures dans la présentation des résultats, des acronymes ont été associés à chacun des analytes étudiés. Ils sont rappelés dans la liste suivante en fonction de leur classe chimique ou thérapeutique :

Anti-Alzheimer :
DNP : donépézil
GLT : galantamine
MMT : mémantine
RVS : rivastigmine

Antidépresseurs ISRS :
CIT : citalopram
FLX : fluoxétine
PRX : paroxétine
MPRX : (-)-trans-4-[4-(4'-fluorophényl)-3-piperidinylméthoxy]-2-methoxyphénol

Antidépresseurs (autres) :
MSR : miansérine
DVLF : *O*-desméthylvenlafaxine
TNP : tianeptine
VLF : venlafaxine

Antiépileptiques :
CBZ : carbamazépine
GBP : gabapentine
HCBZ : 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine
OCBZ : oxcarbazépine

Benzodiazépines (et molécules associées) :
ALP : alprazolam
BMZ : bromazépam
CLZ : clonazépam
DZP : diazépam
HBMZ : 3-hydroxybromazépam
LMZ : lormétazépam
LRZ : lorazépam
OXA : oxazépam
PZP : prazépam
TTZ : tétrazépam
ZLP-4A : acide zolpidem 4-phényl-carboxylique
ZLP-6A : acide zolpidem 6-carboxylique
ZOP : zopiclone
ZOP-N-ox. : zopiclone-N-oxyde

Opiacés et Opioïdes
BUP : buprénorphine

COD : codéine
EDDP : 2-éthylidine-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrolidine
MPH : morphine
MTD : méthadone
NCOD : norcodéine
OXY : oxycodone
TMD : tramadol

Substances illicites :
BZL : benzoylecgonine
COC : cocaïne
COCE : cocaéthylène
mCPP : méta-chlorophénylpiperazine
MDA : 3,4-méthylènedioxyamphétamine
MDMA : 3,4-méthylène-dioxy-N-méthylamphétamine
MPD : méphédrone

Psycholeptique (autre) :
MPB : méprobamate

Autres médicaments de consommation courante :
HIBU : 2-hydroxyibuprofène

1. Enjeux de l'échantillonnage dans l'analyse des systèmes aquatiques

L'échantillonnage est le tout premier maillon du processus de mesure. En effet si cette étape s'avère inadaptée aux objectifs, même les résultats expérimentaux mettant en œuvre un protocole analytique des plus rigoureux seront erronés sans qu'il soit possible de les corriger par la suite (Matamoros, 2012). L'une des problématiques essentielles dans le domaine des mesures environnementales est la représentativité de la mesure pour garantir une bonne prise de décision. C'est la raison pour laquelle la stratégie d'échantillonnage doit être très précisément construite. Cela passe par les choix cruciaux que sont la méthode et le plan d'échantillonnage dans le but d'intégrer les enjeux de variabilité spatio-temporelle. Un état de l'art des techniques d'échantillonnage mises en œuvre pour l'étude de l'occurrence des micropolluants organiques et plus particulièrement des psychotropes est présenté et discuté en introduction de ce chapitre.

1.1. L'échantillonnage actif

L'échantillonnage actif repose sur la prise d'un volume précis d'échantillon. Le résultat de la mesure correspond donc à une valeur réelle. Les différentes techniques d'échantillonnage actif se distinguent par leur continuité temporelle (échantillonnage discret ou continu) comme l'illustre la FIGURE 3.1.

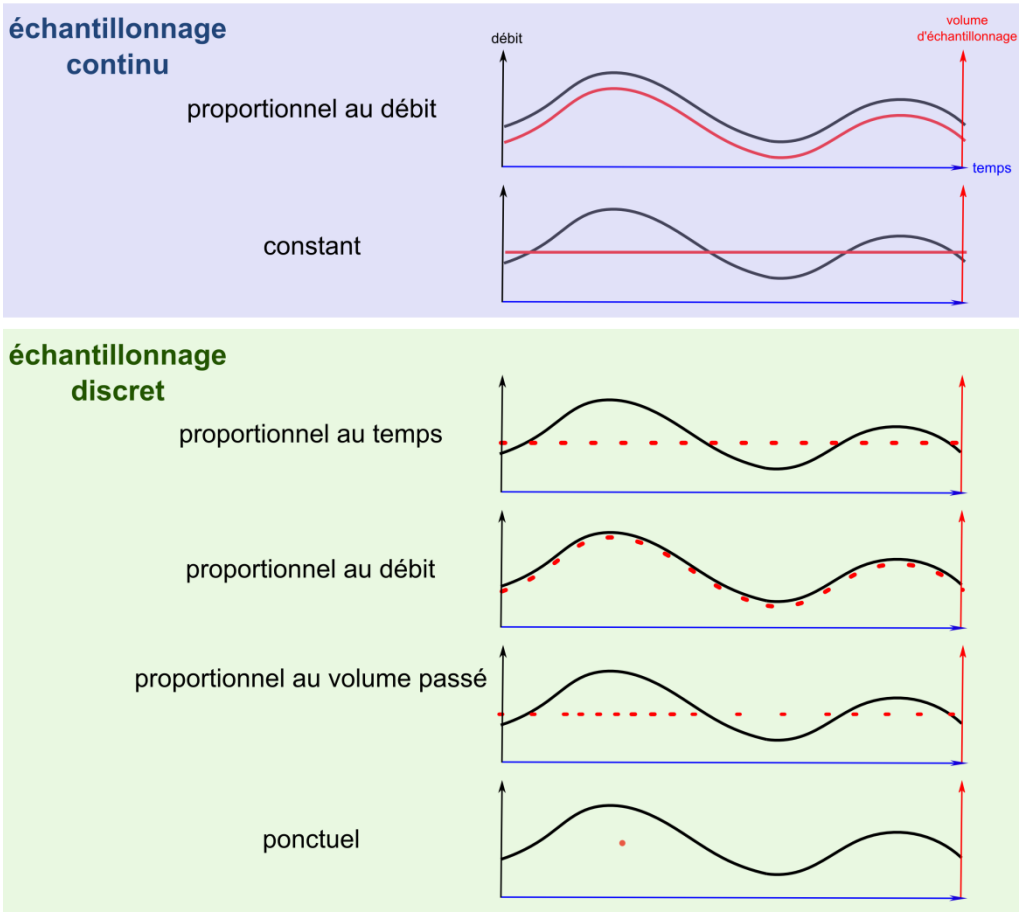


FIGURE 3.1 – Les différents mode d'échantillonnage actif (adapté de (Ort et al., 2010b))

Les échantillons collectés sont alors ponctuels s'il s'agit d'une prise unique ou composite s'il s'agit d'un mélange de plusieurs prises. Celles-ci peuvent par ailleurs être définies par une série temporelle, volumique ou débitmétrique.

Le TABLEAU 3.1 présente une synthèse bibliographique de 63 publications qui rapportent des études de monitoring des composés sélectionnés dans ce travail, en eaux de surface et en STEP. L'ANNEXE 3.1 décrit en détail chacune d'entre elles.

milieu	type d'échantillonnage	nombre de références
eaux de surface	ponctuel	39
	automatique (temps/2h)	1
eaux STEP	ponctuel	15
	automatique (temps/24h)	24
	automatique (débit/24h)	9
	automatique (volume/24h)	3

TABLEAU 3.1 – Type de méthodes d'échantillonnage mises en œuvre parmi 63 références bibliographiques analysant les composés sélectionnés dans les eaux de surface et de stations d'épuration

1.1.1. Principaux avantages et inconvénients des méthodes d'échantillonnage actif

Le prélèvement ponctuel est de loin la méthode d'échantillonnage la plus couramment mise en œuvre dans l'analyse des eaux de surfaces : 1 seule étude sur les 40 citées utilise un prélèvement automatisé (TABLEAU 3.1).

Les principaux avantages du prélèvement ponctuel sont :
- sa rapidité de mise en œuvre,
- le peu de moyen qu'il nécessite,
- l'échantillonnage simultané de la phase dissoute et de la phase particulaire.

La mesure issue de ce type prélèvement est représentative d'un instant et d'une position donnée. Cela constitue son principal inconvénient et peut poser problème lorsque la masse d'eau échantillonnée est inhomogène ou sujette à de fortes variations temporelles.

Pour des raisons de coût et de logistique, les échantillonneurs automatiques sont souvent déployés sur des sites protégés. Aussi, le recours à l'échantillonnage automatique par rapport à l'échantillonnage ponctuel est beaucoup plus fréquent et même majoritaire dans le cas d'études portant sur les eaux de stations d'épuration : environ 70% des publications étudiées ont fait ce choix (TABLEAU 3.1).

Les principaux avantages des échantillonneurs automatiques sont :
- la possibilité d'être programmés selon la volonté de l'utilisateur tant au niveau de la fréquence que des volumes prélevés,
- l'échantillonnage simultané des phases dissoute et particulaire.

Les principaux désavantages des échantillonneurs automatiques sont :
- le risque de non respect de l'intégrité de l'échantillon,
- la nécessité une source d'énergie et une maintenance régulière,
- la possibilité d'encrassement et de subir des pannes

Les échantillonneurs automatiques permettent de mettre en œuvre des plans d'expérience sur des échantillons moyennés 24h de façon proportionnelle au temps, au débit ou au volume. Dans la pratique, l'utilisation dans la configuration proportionnelle au temps reste la plus courante (48% des études recensées, TABLEAU 3.1). Bien que rarement discuté, le choix de la fréquence et du mode d'échantillonnage doit être motivé par les variations du mesurande et les objectifs de l'étude (Ort et al., 2010b). Ainsi, une fréquence élevée est nécessaire pour mesurer la concentration d'un composé dont la présence subit d'importantes variations à court-terme. Comme le soulignent Ort et al., le prélèvement proportionnel au temps, pourtant le plus utilisé, n'est pas forcement le mieux adapté pour l'obtention d'un échantillon représentatif moyenné *« conceptuellement, il est clair qu'un mode d'échantillonnage proportionnel au temps sous- ou sur-estimera systématiquement les concentrations en polluants lorsque les débits varient et quand débit et concentration sont positivement ou négativement corrélés »* (Ort et al., 2010b). De plus, les auteurs concluent sur la possibilité d'aboutir à des conclusions erronées faute d'une technique d'échantillonnage appropriée (Ort et al., 2010a, 2010b). Ces considérations soulignent que l'utilisation d'échantillonneurs automatiques n'affranchit pas totalement de la question de la représentativité de l'échantillon.

Les enjeux de représentativité de l'échantillon ne reposent pas uniquement sur le seul le mode d'échantillonnage. En effet, il est absolument crucial de respecter et de garantir l'intégrité de l'échantillon tout au long du processus. L'échantillonnage actif soulève donc également la problématique de la stabilité de l'échantillon jusqu'à son analyse ainsi que les interactions potentielles avec les contenants utilisés.

1.1.2. Effets du contenant

Si le prélèvement ponctuel est très largement utilisé dans les études environnementales, les protocoles adoptés divergent. Certains auteurs utilisent des bouteilles en verre ambré (Berset et al., 2010; Gros et al., 2012) pouvant être préalablement rincées à l'acide puis calcinées (Togola et al., 2008a) ou encore désactivées suite à des rinçages successifs par une solution de diméthyldichlorosilane 5% dans le toluène, de toluène pur puis de méthanol (Kasprzyk-Hordern et al., 2007). Ces étapes de lavages ont pour buts respectifs la suppression d'éventuelles traces de composés organiques et la saturation des groupes silanols résiduels à la surface du verre afin d'éviter d'adsorption des composés polaires. De façon alternative, des bouteilles silanisées commerciales peuvent être utilisées (Baker et al., 2013). D'autres auteurs préfèrent quant à eux mettre en œuvre des récipients en polyéthylène ambré (Al Aukidy et al., 2012) ou non (Klosterhaus et al., 2013). Une étude de l'agence américaine de protection de l'environnement (EPA) datant de 2010 a évalué différents types de matériaux contenant des échantillons d'eau déionisée dopée par un mélange de 87 composés pharmaceutiques appartenant à 19 classes thérapeutiques. Malgré la disparité des molécules, les bouteilles en verre ambré non silanisé présentaient le meilleur compromis pour la majorité des analytes (EPA, 2010). Les mêmes conclusions ont été émises à la suite d'un essai inter-laboratoires international (Vanderford et al., 2012). Cette étude portait, entre autres analytes, sur la carbamazépine, la fluoxétine, le paracétamol, le diclofénac, le naproxène et l'ibuprofène.

1.1.3. Stabilité des échantillons : additifs, température et temps de stockage

Afin de prévenir la dégradation des analytes au sein de l'échantillon, certains auteurs mettent en œuvre des protocoles impliquant l'adjonction d'additifs. Ces derniers sont utilisés comme des conservateurs en stabilisant les composés en solution, en éliminant la population bactérienne ou en agissant comme antioxydant. La pratique la plus courante consiste à ajuster l'échantillon prélevé à pH 2 avec de l'acide chlorhydrique 37% (Baker et al., 2011a; Berset et al., 2010; Gheorghe et al., 2008; Kasprzyk-Hordern et al., 2007, 2008a, 2008b; van Nuijs et al., 2010, 2009a). Du thiosulfate de sodium (Hao et al., 2008) ainsi que de l'azoture de sodium et de l'acide ascorbique (Gros et al., 2012; Vanderford et al., 2006) sont également parfois ajoutés à l'échantillon.

Les pratiques constatées dans l'ensemble des publications étudiées, qu'elles traitent d'échantillons d'eaux de surface ou d'épuration, révèlent que les échantillons sont soit conservés au réfrigérateur à +4°C si l'analyse a lieu dans un court lapse de temps (24 à 48h typiquement) ou au congélateur à -20°C lorsque l'analyse a lieu dans un délai plus important. Pour des raisons logistiques, seuls Loos et al. ont stockés leurs échantillons d'eau d'épuration à +4°C durant une période de 1 à 2 mois (Loos et al., 2013). Ce délai semble convenable pour certains composés (Gawlik et al., 2012; Vanderford et al., 2012) sans que cela ait été toutefois vérifié pour l'ensemble des analytes étudiés.

En 2013, une revue bibliographique a été consacrée aux conditions de stockage des eaux naturelles pour la quantification de composés pharmaceutiques. Les auteurs y soulignent que la température et la durée de conservation des échantillons avant analyse sont susceptibles d'impacter les processus éventuels de dégradation par l'augmentation de l'activité bactérienne (biodégradation) et de la cinétique de réactions chimiques (hydrolyse, photodégradation) (Mompelat et al., 2013). Mompelat *et al.* ont constaté que parmi 51 composés pharmaceutiques appartenant à 7 familles thérapeutiques étudiés dans différentes conditions de conservation la majorité (70%) était stable dans les eaux de surface pendant au moins 7 jours à une température donnée. En particulier les quantités de diazépam, de diclofénac, d'ibuprofène, et de naproxène restent constantes à -20 °C et à +4°C ainsi qu'à température ambiante durant 8 jours au moins. Il ne semble pas exister de différence majeure pour la stabilité des composés dans ces trois conditions selon leurs classes thérapeutiques à l'exception des hormones (Mompelat et al., 2013). Par contre, une instabilité à -20°C a été constatée pour la fluoxétine, le méprobamate et la carbamazépine (Vanderford et al., 2011) ainsi qu'à +4°C pour la fluoxétine lorsque la période de stockage est supérieure à 72h. Ces résultats révèlent l'importance des conditions de stockage dans le contexte d'une analyse multi-résidus à faible concentration dans des eaux naturelles. Toutefois, au regard des données disponibles, la conservation au réfrigérateur à +4°C pour une période de 24 à 48h assure la stabilité d'échantillons d'eaux naturelles filtrées pour la grande majorité des composés étudiés (Baker et al., 2011b; Mompelat et al., 2013; Vanderford et al., 2011). Une étude conduite dans une eau souterraine dopée à 80 $ng.L^{-1}$ confirme ces observations. Ainsi la stabilité à +4°C pendant 7 jours a été démontrée pour l'alprazolam, la carbamazépine, le diazépam, le diclofénac, le lorazépam, le naproxène, l'oxazépam, le paracétamol et le zolpidem. Dans ces conditions le kétoprofène et le bromazépam se dégradaient au bout de 6 et 2 jours respectivement (Bristeau, 2011). En outre, ces observations sont en accord avec les recommandations de la norme expérimentale XP

T 90-223 qui recommande la filtration et l'extraction de l'échantillon au plus tard 48 heures après le prélèvement.

Pour des raisons de stabilité, certains auteurs utilisent l'échantillonnage ponctuel pour l'analyse d'eaux de stations d'épuration. Baker et al. rapportent des dégradations significatives (>15%) dans des eaux brutes au bout de 12 heures à 2°C (Baker et al., 2011b). Repice *et al.* considèrent au contraire que pour les besoins de leur étude, les avantages que constituent un échantillon moyenné sont bien supérieurs aux inconvénients liés à des potentiels phénomènes de dégradation (Repice et al., 2013).

1.1.4. Partition entre phase particulaire et phase dissoute

Les échantillons prélevés par les techniques actives (ponctuelle ou automatique) constituent un système diphasique composé d'une fraction particulaire et d'une fraction dissoute.

Compte tenu de la polarité des composés pharmaceutiques, il est souvent considéré que le rôle de la phase particulaire est négligeable dans le processus de mesure. En 2011, Soulier *et al.* ont analysé la partition entre phase particulaire et phase dissoute dans des effluents de station d'épuration pour plusieurs analytes (Soulier et al., 2011). Les résultats de cette étude montrent que le paracétamol, la carbamazépine, le nordazépam et le diazépam ont été principalement quantifiés dans la phase dissoute (< 80%). Dans ces conditions la fluoxétine a été mesurée à environ 60% (avec une forte dispersion) dans la phase dissoute et le bromazépam était majoritairement présent dans la phase particulaire (Soulier et al., 2011). La partition de 26 substances pharmaceutiques a été étudiée dans une eau de surface dopée à 100 $ng.L^{-1}$ et dont la part de matières en suspension atteignait jusqu'à 85 $mg.L^{-1}$ (Bristeau, 2011). L'ensemble des composés étudiés dans ces conditions a été majoritairement quantifié dans la phase dissoute. En effet moins de 5% de la quantité mesurée a été retrouvé dans la fraction particulaire pour la grande majorité des analytes dont notamment la carbamazépine, le zolpidem, le diazépam, l'oxazépam, le lorazépam, l'alprazolam, le bromazépam, le diclofénac, le naproxène et le kétoprofène (Bristeau, 2011). Dans les eaux de l'estuaire de la Seine, Togola *et al.* ont constaté des concentrations en kétoprofène dans la phase particulaire particulièrement élevés (Togola, 2006). Les auteurs avancent l'hypothèse que la contamination du milieu par des eaux de rejets au niveau du site d'étude pourrait expliquer les résultats observés. En effet, les paramètres environnementaux comme le pH, la salinité, la température, et la teneur en matière organique sont susceptibles de modifier partition entre les phases particulaire et dissoute (Amalric et al., 2011).

L'étape de filtration semble prévenir la dégradation durant les premières heures de stockage tout particulièrement en matrice chargée comme des eaux brutes de stations d'épuration (Baker et al., 2011b). Toutefois, les agrégats insolubles peuvent obstruer les filtres et entraîner des pertes éventuelles lors de l'étape de filtration (Vanderford et al., 2011). L'impact de la filtration avec un filtre en fibre de verre est néanmoins négligeable sur l'analyse de nombreux analytes parmi lesquels des AINS, des drogues stimulantes, des opiacés et des opioïdes, des benzodiazépines et des antidépresseurs et ce quelque soit leurs propriétés physico-chimiques et le diamètre de pore des filtres (0,7, 1,2 et 2,7 µm) (Baker et al., 2011b; Mompelat et al., 2013). Les références bibliographiques étudiées (TABLEAU 3.1) mesurent la concentration en polluants organiques au sein de la phase dissoute, les échantillons naturels sont tous donc préalablement filtrés. Cette étape est généralement assurée sur un filtre en fibre

de verre auquel certain auteurs associent une filtration supplémentaire sur filtre nylon de diamètre de pore plus faible (Al Aukidy et al., 2012).

Quelle que soit la méthode choisie, l'échantillonnage actif n'autorise que la description de phénomènes de courte durée. La représentativité des échantillons produits par de telles approches varie de quelques secondes (ponctuel) à quelques jours (automatique moyenné 72h). Or, la diffusion des résidus médicamenteux dans l'environnement est continue et peut être ponctuée d'évènements accidentels (pics de pollution) liés aux conditions climatiques ou à des dysfonctionnements dans les ouvrages de traitement des eaux résiduaires urbaines (by-pass pendant les orages etc…). L'ensemble de ces considérations a conduit au développement de nouvelles approches de surveillance des milieux : l'échantillonnage passif.

1.2. L'échantillonnage passif

1.2.1. Définition

Huckins et al. définissent un échantillonneur passif comme *« un dispositif artificiel au sein duquel la collecte et l'extraction de l'échantillon sont effectuées simultanément et de manière totalement passive »* (Huckins et al., 2006). Le principe de cette technique repose sur la diffusion in situ des composés présents dans la phase dissoute vers une phase réceptrice adsorbante durant une période définie (plusieurs semaines typiquement). La phase réceptrice peut être constituée d'un solvant, d'un réactif chimique ou encore d'un adsorbant poreux (Vrana et al., 2005).

1.2.2. Les principaux dispositifs intégratifs

Dans une revue de 2005, Vrana *et al.* présentent plus d'une vingtaine d'échantillonneurs différents pour l'analyse de composés organiques dans l'eau (Vrana et al., 2005). Seuls les principaux seront évoqués ici.

Les SPMD (*Semi-Permeable Membranes Devices*) sont historiquement les premiers échantillonneurs intégratifs développés. Un SPMD est constitué d'une membrane tubulaire en polyéthylène remplie d'une substance lipidique de haut poids moléculaire (triolèine). Comme son nom l'indique, les membranes du SPMD sont semi-poreuses et la taille des pores n'autorise l'absorption que des petites molécules présentes en phase dissoute. Les SPMD présentent une affinité particulière envers les composés apolaires (Hydrocarbures aromatiques polycycliques, Polychlorobiphényles) typiquement avec log K_{ow} >3 (Vrana et al., 2005**)**.

Les Chemcatcher® sont des échantillonneurs qui, dans leur version polaire, utilisent une membrane de diffusion en polyéthersulfone recouvrant un disque composé d'une phase adsorbante C18 (Empore Disk® C18), le tout étant bloqué dans un support en plastique inerte. La gamme d'application des Chemcatcher® est identique à celle des POCIS (Vrana et al., 2005).

Les POCIS (*Polar Organic Compounds Integrative Sampler*) ont été développés par Alvarez et *al.* en 1999. Ils ont été conçus pour échantillonner les composés organiques polaires avec un log K_{ow} < 4. Il existe deux versions commerciales de l'outil dites POCIS *« pesticides »* et POCIS *« pharmaceutiques ».* Quelle que soit sa version, un POCIS est composé de deux disques annulaires en acier qui maintiennent deux membranes en polyéthersulfone (PES) elles-mêmes renfermant la phase adsorbante

(FIGURE 3.2). Celle-ci est constituée d'un mélange triphasique (Isolute ENV+, Abersorb 1500 et Biobeads S-X3) dans le cas de la version *« pesticides »* et du polymère Oasis® HLB dans celui de la version *« pharmaceutiques »* (Alvarez et al., 2004). Cette phase polymérique met en jeu des interactions hydrophiles et lipophiles ce qui lui confère des capacités de rétention sur une large gamme de propriétés chimiques.

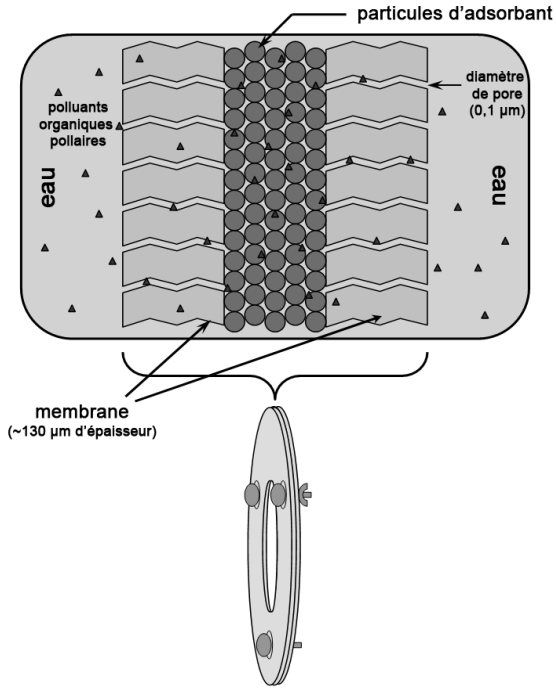


FIGURE 3.2 – Représentation schématique d'un POCIS (adapté de (Alvarez, 2007))

Même s'ils sont utilisables pour une large gamme de polluants, les POCIS ne sont pas toujours adaptés avec notamment un équilibre atteint rapidement pour les composés les plus hydrophiles et des phénomènes de *« lag time »* pour les plus hydrophobes. Ils correspondent au lapse de temps temps nécessaire pour que ces composés difusent à travers la membrane et atteignent la phase réceptrice. Pour s'affranchir de ces limites, de nouveaux outils dits *« POCIS-like »* ont été développés. Ces développements reposent sur l'adaptation de l'outil : développement sur la nature et le diamètre de pore de la membrane et développement sur la nature, la granulométrie et la quantité de phase adsorbante (Belles et al., 2014; Soulier, 2012). A titre d'exemple, Belles rapporte que l'utilisation de membrane en Nylon avec un diamètre de pore plus important (30µm) par rapport à la configuration classique permet d'échantillonner des composés hydrophobes et d'accélérer l'accumulation des autres analytes (Belles et al., 2014).

1.2.3. Intérêt des échantillonneurs passifs

La mesure de la contamination du système aquatique par des polluants organiques soulève plusieurs problèmes. Le plus évident est celui de la détection et de la quantification. Celles-ci qui peuvent s'avérer difficiles dans la mesure où les composés à caractériser sont présents dans des concentrations très faibles c'est-à-dire de l'ordre du nanogramme voire du picogramme par litre. Les techniques analytiques disponibles ne permettent pas toujours d'atteindre les performances souhaitées et la

seule solution est alors d'augmenter de façon conséquente le volume prélevé à la condition de pouvoir lui appliquer un protocole d'extraction approprié. Toutefois cette solution n'est pas sans inconvénients techniques, logistiques et économiques. La seconde problématique demeure fondamentale pour toute étude environnementale : quelle est la représentativité de l'échantillon prélevé ? En effet, intrinsèquement, un échantillon prélevé à un instant *t* n'intègre pas des variations dues aux courants, aux précipitations, aux pics de pollution ou aux saisons. Par conséquent il est peu probable qu'une mesure ponctuelle de polluant soit représentative d'une concentration moyenne du milieu considéré sauf pour le cas d'environnement extrêmement stable (Harman et al., 2012a). L'augmentation des fréquences de mesures ou la mise en place de systèmes de prélèvements automatiques pourraient permettre de palier partiellement à ce problème sans toutefois le résoudre totalement d'autant plus cette solution créée elle aussi des difficultés techniques, logistiques et économiques.

1.2.4. Aspect théorique de l'échange d'un analyte entre la phase dissoute et l'échantillonneur passif

Le mécanisme de diffusion *in situ* des contaminants vers la phase réceptrice est régi par leurs cinétiques de transfert dans les différents compartiments traversés. La FIGURE 3.3 schématise ce processus dans le cas d'échantillonneurs passifs de type POCIS.

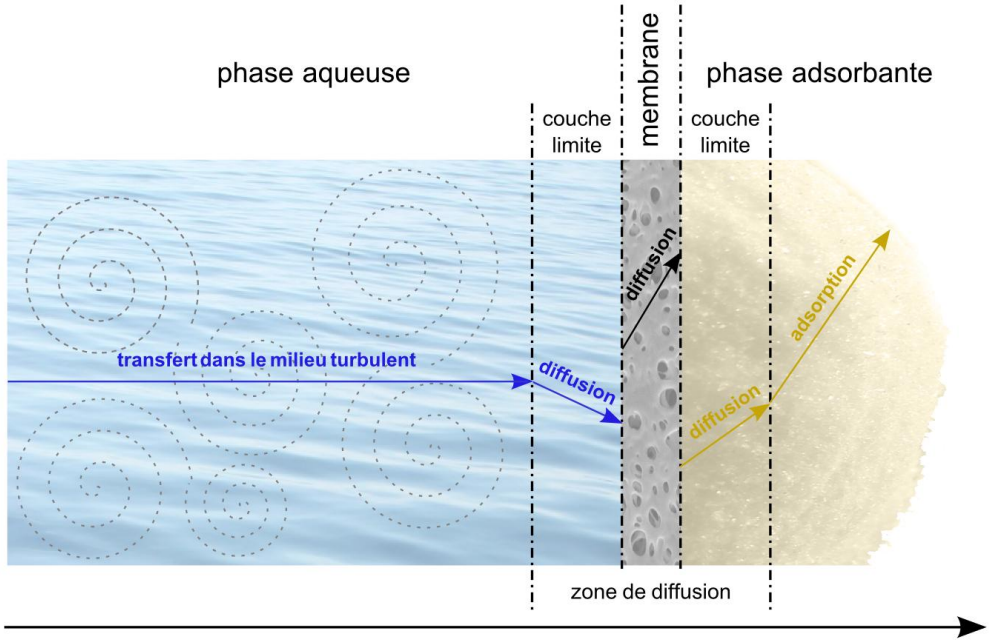


FIGURE 3.3 – Représentation du transfert des contaminants vers un échantillonneur passif (adapté de (Lissalde, 2010) et de (Belles, 2012))

Les différentes étapes conduisant à l'accumulation des polluants dans la phase réceptrice peuvent être décrites de la façon suivante (Belles, 2012) :

1. La concentration dans le milieu turbulent est considérée homogène et non impactée par la présence de l'échantillonneur
2. Le transfert est initié par diffusion dans la couche limite d'eau à proximité de la surface de l'échantillonneur. La couche est considérée statique et la cinétique de diffusion en son sein est dépendante de son épaisseur.

3. Puis le contaminant se diffuse dans la membrane (PES diamètre de pore 0,1 µm). Cette diffusion est fortement dépendante des propriétés intrinsèques de la membrane ainsi que de la nature des contaminants.
4. L'eau située dans l'espace interstitiel entre la membrane et la phase adsorbante constitue une couche limite entre ces compartiments dans laquelle se diffusent les contaminants.
5. Enfin, les composés sont adsorbés dans la phase réceptrice (Oasis® HLB) selon différents mécanismes de rétentions.

Les différents processus de transferts peuvent être simplifiés et la cinétique globale d'accumulation définie par une cinétique du premier ordre. Cette simplification implique que les étapes de diffusion à travers les couches limites et la membrane sont négligées. De plus, il existe trois conditions nécessaires à l'estimation de la concentration d'un polluant présent en phase dissoute par un échantillonneur passif (Huckins et al., 2006) :

- La concentration dans l'échantillonneur doit être proportionnelle à la concentration environnementale et les constantes cinétiques d'accumulation et de désorption associées indépendantes de la concentration dans le milieu ;

- Le procédé d'échantillonnage ne doit pas modifier significativement la concentration en analyte dans le milieu étudié ;

- Les données d'étalonnage applicables aux conditions du milieu étudié doivent être connues pour l'analyte mesuré.

La FIGURE 3.4 présente le modèle théorique d'accumulation d'un polluant par un échantillonneur passif. Deux principaux régimes d'accumulation peuvent être distingués dans ce profil : le régime cinétique et l'état d'équilibre.

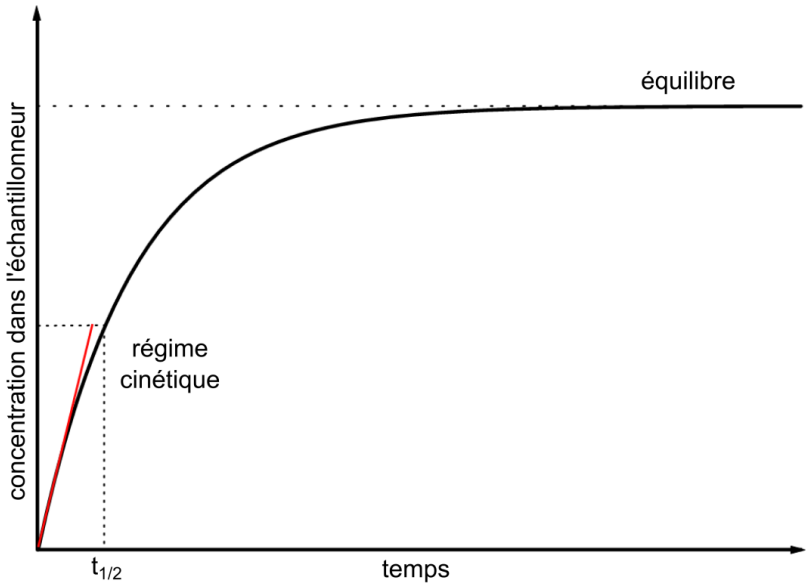


FIGURE 3.4 – Régimes d'accumulation d'un polluant sur un échantillonneur intégratif (adapté de (Vrana et al., 2005))

Comme le décrit l'équation 1, l'accumulation d'un analyte dans l'échantillonneur dépend des concentrations de l'analyte dans l'échantillonneur, dans la phase dissoute et des constantes cinétiques d'accumulation et de désorption :

$$\frac{dC_s}{dt} = k_u C_w - k_e C_s \text{ [eq.1]}$$

avec C_s la concentration de l'analyte dans l'échantillonneur ($ng.g^{-1}$)
C_w la concentration de l'analyte dans la phase dissoute ($ng.L^{-1}$)
k_u la constante d'accumulation ($L.g^{-1}.j^{-1}$)
k_e la constante de désorption (j^{-1})

La forme intégrée de l'équation 1 permet de décrire les échanges entre la phase réceptrice et l'eau par rapport à la concentration dans l'échantillonneur à un instant t comme le décrit l'équation 2 (Vrana et al., 2005) :

$$C_s(t) = C_w \frac{k_u}{k_e}(1 - e^{-k_e t}) \text{ [eq.2]}$$

En fonction du régime d'accumulation, il est possible de déterminer les différentes constantes cinétiques nécessaires à la connaissance de la concentration en phase dissoute.

A l'équilibre, c'est-à-dire quand $t \to +\infty$ [eq. 2] devient : $C_s(t) = C_w \frac{k_u}{k_e}$

Soit en posant le coefficient de partage échantillonneur et l'eau $K_{sw} = \frac{k_u}{k_e}$:

$$C_s(t) = C_w K_{sw} \text{ [eq.3]}$$

Ainsi, la caractérisation du coefficient de partage permet de connaitre la concentration dans l'eau si l'équilibre thermodynamique est atteint.

Au régime cinétique, c'est-à-dire lorsque temps d'exposition est inférieur au temps de demi-équilibre $t_{1/2}$, l'accumulation de l'analyte dans l'échantillonneur est considérée linéaire. Le taux de désorption étant alors négligeable, il est possible de simplifier le modèle cinétique :

si $t \leq t_{1/2}$, $k_e \to 0$ [eq.1] devient $\frac{dC_s}{dt} = k_u C_w$ [eq.4]

La forme intégrée de l'équation 4 permet de décrire les échanges entre la phase réceptrice et l'eau par rapport à la concentration dans l'échantillonneur à un instant t dans ces conditions :

$$C_s(t) = C_w k_u t + a$$

avec a constante = 0 si $C_s(t_0) = 0$

Ainsi en posant le taux d'échantillonnage $R_s = k_u m$

$$M_s(t) = C_w R_s t \quad \text{[eq.5]}$$

avec M_s la masse d'analyte dans l'échantillonneur (ng)
R_s le taux d'échantillonnage ($L.j^{-1}$)
m la masse de phase réceptrice dans l'échantillonneur (g)

Enfin, il est possible de réécrire l'équation 5 en fonction du facteur de concentration CF tel que :

$$CF = \frac{C_s}{C_w}(t) = \frac{R_s}{m}\ t = k_u\ t \quad \text{[eq. 6]}$$

avec CF le facteur de concentration ($L.g^{-1}$)

Ainsi, lorsque l'échantillonneur est en régime cinétique, il est possible de modéliser le facteur de concentration par régression linéaire entre les concentrations dans l'échantillonneur et celles mesurées dans l'eau. Etant donné que l'échantillonneur est exempt d'analytes au début de l'exposition (T=0), cette régression linéaire peut être forcée en zéro. La constante d'accumulation k_u peut ensuite être déterminée par identification membre à membre. Les taux d'échantillonnage R_s sont ensuite calculés en multipliant la constante d'accumulation par la masse de phase réceptrice contenue dans les échantillonneurs exposés.

L'information apportée par l'utilisation d'échantillonneurs passifs utilisés en régime cinétique est illustrée en FIGURE 3.5.

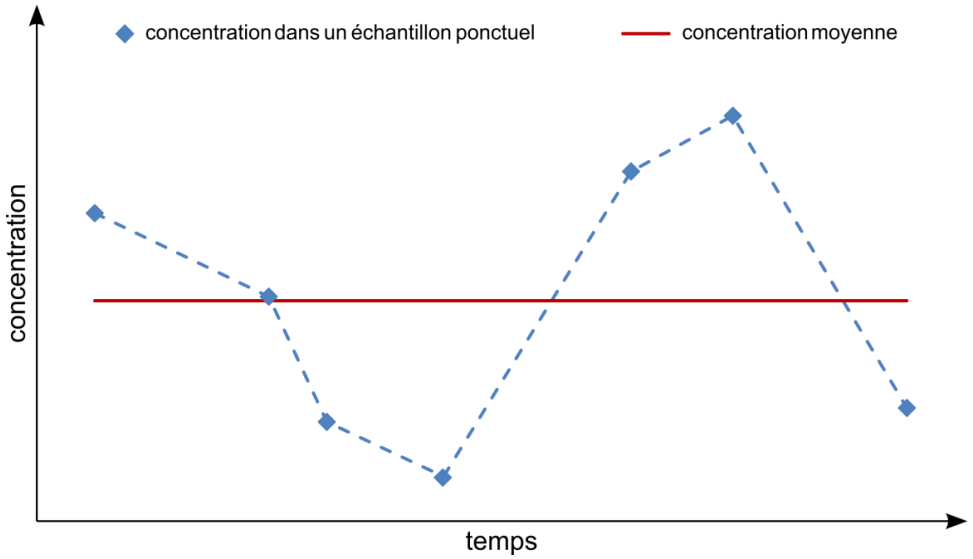


FIGURE 3.5 – Comparaison des informations fournies par échantillonnage passif et ponctuel (adapté de (Mazzella et al., 2011))

Le taux d'échantillonnage d'un échantillonneur passif peut être conceptualisé comme le volume d'eau duquel les composés à analyser ont été extraits durant une période définie et est généralement exprimé en litres par jour (Harman et al., 2012a). Typiquement les taux d'échantillonnage pour les composés étudiés sont compris entre

0,01 et 0,6 L/jour environ ce qui correspond sur une période d'un mois entre 0,3 et 18L échantillonnés (voir paragraphe 3.3.5). Une si grande prise d'essai augmente donc, de fait, la probabilité de détecter le composé recherché. De plus la connaissance du taux d'échantillonnage autorise l'accès à la concentration moyennée sur la durée d'exposition. C'est pourquoi le terme d'échantillonnage intégratif (par rapport au temps) est également utilisé. En outre, les concentrations moyennées dans le temps fournissent une information plus riche en terme de représentativité qu'un échantillon ponctuel car elles intègrent les pics éventuels de contamination, et les différents autres facteurs environnementaux de variabilité.

Des approches par échantillonnage intégratif ont été développées pour la caractérisation dans l'environnement de certains des composés sélectionnés. Celles-ci concernent plus particulièrement, l'utilisation d'échantillonneurs de type POCIS.

1.3. Echantillonneurs intégratifs de type POCIS pour l'analyse des composés sélectionnés

Les log K_{ow} des composés sélectionnés dans ce travail de thèse sont majoritairement inférieurs à 4. Parmi eux, seulement 6 composés présentent des log K_{ow} compris entre 4,35 (fluoxétine) et 5,15 (sertraline). Le POCIS semble donc l'échantillonneur le mieux adapté à la caractérisation environnementale des molécules étudiées.

Plusieurs publications rapportent l'utilisation de POCIS *« pharmaceutiques »* pour 30 analytes différents parmi ceux étudiés dans ce travail. Plus particulièrement, la littérature décrit l'étalonnage de POCIS pour l'ensemble des composés parents des médicaments de consommation courante sélectionnés (paracétamol, ibuprofène, diclofénac, naproxène et kétoprofène). L'applicabilité des POCIS a également été démontrée pour 6 benzodiazépines (alprazolam, bromazépam, diazépam, nordazépam, lorazépam, oxazépam) différentes ainsi que pour des antidépresseurs dont 5 composés parents (citalopram, fluoxétine, paroxétine, sertraline, venlafaxine) et 2 métabolites (*N*-desméthylcitalopram, *O*-desméthylvenlafaxine). Au sein de cette classe thérapeutique figurent notamment la fluoxétine et la sertraline, molécules parmi les plus hydrophobes de l'étude. En outre, les composés hydrophiles comme l'oxycodone et la morphine ont aussi été échantillonnées par des POCIS. En tout, ces échantillonneurs ont été étalonnés pour 6 molécules opiacées et opioïdes (codéine, morphine, méthadone, EDDP, tramadol, oxycodone) ainsi que 5 autres appartenant au groupe des substances illicites (benzoylecgonine, cocaïne, cocaéthylène, MDA, MDMA).

En France, Togola *et al.* ont développé une approche intégrative utilisant les POCIS pour 17 molécules dont le diazépam, le nordazépam, la carbamazépine, l'acétaminophène, le naproxène, l'ibuprofène et le kétoprofène (Togola et al., 2007b). L'application de cette méthode dans les eaux de la Meuse et de la Seine a mis en évidence la présence de l'ensemble des composés précédemment cités (Togola, 2006). Une autre étude a permis de caractériser l'occurrence de la carbamazépine, de l'ibuprofène, du naproxène, du diclofénac et du kétoprofène dans les eaux d'une petite rivière située près de Bordeaux (Soulier, 2012). Dans la même région, le déploiement de plus de 70 POCIS durant 2 ans a également conduit à la caractérisation de certains des composés étudiés à l'échelle de l'estuaire de la Gironde (Belles, 2012). Ainsi, l'analyse des POCIS a montré une contamination par des composés psychotropes

comme la carbamazépine, la fluoxétine, le diazépam, le nordazépam et le bromazépam ainsi que par les composés non psychotropes sélectionnés le paracétamol et les AINS (diclofénac, naproxène, ibuprofène, kétoprofène) (Belles, 2012).

Bailly *et al.* ont récemment évalué l'utilisation de POCIS pour la caractérisation de résidus médicamenteux dans les effluents hospitaliers (Bailly et al., 2013). Les auteurs ont ensuite déployé les échantillonneurs dans les conduits d'eaux usées d'un établissement hospitalier français et ont ainsi mesuré 6 composés pharmaceutiques dont notamment le kétoprofène (Bailly et al., 2013).

A l'étranger, Mac Leod *et al.* ont immergé des POCIS dans des eaux de surface canadienne pour la caractérisation de plusieurs produits pharmaceutiques allant de composés ayant un log K_{ow} < 2 comme la codéine jusqu'à des molécules dont le log K_{ow} est > 4 comme la fluoxétine ou le diclofénac (MacLeod et al., 2007b). La méthode développée a permis d'établir des concentrations moyennées dans le temps pour l'ensemble de ces molécules ainsi que pour la carbamazépine et le naproxène (MacLeod et al., 2007b). Li *et al.* ont déployé ces outils dans les eaux du lac Ontario ce qui leur a permis d'estimer des concentrations moyennes mensuelles en venlafaxine, citalopram et leurs métabolites desmethylés ainsi qu'en carbamazépine, acétaminophène, ibuprofène et naproxène (Li et al., 2010a).

Au Canada toujours, une étude récente rapporte l'utilisation d'échantillonneur de type POCIS pour l'estimation de la consommation de drogues illicites et d'autres composés psychotropes dans les eaux brutes de deux stations d'épuration (Yargeau et al., 2013). Les auteurs ont également effectué un déploiement dans les eaux traitées et y ont caractérisé l'occurrence de 7 molécules opiacées et opioïdes dont la morphine, la codéine, l'oxycodone, le tramadol, la méthadone et son métabolite l'EDDP (Yargeau et al., 2013). Des substances illicites ont également été quantifiées et notamment la MDMA, la cocaïne et son principal métabolite, la benzoylecgonine (Yargeau et al., 2013). Auparavant, Harman *et al.* avaient développé une démarche similaire dans une station d'épuration norvégienne (Harman et al., 2011a). Le déploiement de 3 POCIS toutes les deux semaines sur une période d'un an avaient alors mis en évidence la présence récurrente de MDMA, de cocaïne, de benzoylecgonine et de cocaéthylène (Harman et al., 2011a).

Pour l'ensemble des travaux cités, les taux d'échantillonnage ont été déterminés expérimentalement en laboratoire ou *in situ* par des expériences d'étalonnage. Celles-ci sont indispensables à l'exploitation quantitative des échantillonneurs passifs. Le TABLEAU 3.2 en présente une synthèse.

molécule	R_s ($L.j^{-1}$)	conditions d'étalonnage	référence
carbamazépine	0,188 ± 0,005	flux continu dans 2 aquariums de 50 L dans eau du robinet dopage = 3 ± 2 $\mu g.L^{-1}$ vélocité = 11 $cm.s^{-1}$ T = 20,7°C pH=7,6 DOC = 10,1 $mg.L^{-1}$	(Morin et al., 2013)
diclofénac	0,225 ± 0,009		
ibuprofène	0,118 ± 0,006		
kétoprofène	0,118 ± 0,007		
lorazépam	0,205 ± 0,006		
naproxène	0,84 ±0,001		
oxazépam	0,226 ± 0,009		
benzoylecgonine	0,083	*in situ* dans eau d'épuration	(Harman et al., 2011a)
cocaéthylène	0,137		
cocaïne	0,186		
MDMA	ND		
morphine	0,044		
carbamazépine	0,2	R_s déterminé par modélisation	(Bartelt-Hunt et al., 2009)
paracétamol	0,3		
carbamazépine	0,112 ± 0,023	*batch* fermé dans béchers de 3L dans eau distillée sans agitation 3 ajouts d'eau distillée non dopées / 25j dopage = 1 $\mu g.L^{-1}$ T=28°C pH= 6 - 8	(MacLeod et al., 2007b)
codéine	0,090 ± 0,067		
diclofénac	0,092 ± 0,055		
fluoxétine	0,223 ± 0,130		
ibuprofène	ND		
kétoprofène	0,083 ± 0,078		
naproxène	0,083 ± 0,055		
paracétamol	ND		
paroxétine	ND		
carbamazépine	0,348 ± 0,116	*batch* fermé dans béchers de 3L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vélocité = 3 à 12 $cm.s^{-1}$ 4 ajouts d'eau distillée non dopées / 29j dopage = 1 $\mu g.L^{-1}$ T=22°C pH= 6 - 8	
codéine	0,329 ± 0,133		
diclofénac	0,166 ± 0,052		
fluoxétine	1,37 ± 0,35		
ibuprofène	ND		
kétoprofène	0,135 ± 0,035		
naproxène	0,116 ± 0,053		
paracétamol	ND		
paroxétine	0,883 ± 0,545		
alprazolam	0,48	*batch* fermé dans aquarium de 96L dans eau du robinet agitation (hélicoïdale) vélocité = 0,21 - 0,46 $m.s^{-1}$ dopage = 1 $\mu g.L^{-1}$ ajout journalier de 1 – 4 mL solution de dopage (15 $\mu g.g^{-1}$) ajout journalier de 400 mL d'eau du robinet T= 20,5°C pH = 7	(Soulier, 2012)
bromazépam	0,41		
carbamazépine	0,34		
diazépam	0,37		
diclofénac	0,14		
fluoxétine	0,22		
ibuprofène	0,3		
kétoprofène	0,14		
naproxène	0,15		
nordazépam	0,37		
paracétamol	ND		
carbamazépine	0,36	*batch* fermé dans béchers de 2L dans eau milli-Q agitation (barreau magnétique) dopage = 5 $\mu g.L^{-1}$ renouvellement journalier de l'eau d'exposition T= 21°C salinité = 0 PSU pH = 7,2	(Togola, 2006)
diazépam	0,25		
diclofénac	0,15		
ibuprofène	0,09		
kétoprofène	0,26		
naproxène	0,13		
nordazépam	0,25		
paracétamol	0,02		

TABLEAU 3.2 – Revue bibliographique des conditions expérimentales d'étalonnage et des constantes d'étalonnage (R_s) pour certaines des molécules sélectionnées

molécule	R_s ($L.j^{-1}$)	conditions d'étalonnage	référence
carbamazépine	0,230 ± 0,016	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 800-900 rpm dopage = 2 - 10 $ng.mL^{-1}$ T = 5 °C	(Li et al., 2010a)
N-desméthylcitalopram	0,401 ± 0,082		
fluoxétine	0,484 ± 0,012		
ibuprofène	0,204 ± 0,004		
naproxène	0,239 ± 0,009		
O-desméthylvenlafaxine	0,159 ± 0,001		
paracétamol	0,139 ± 0,011		
paroxétine	0,905 ± 0,023		
sertraline	0,602 ± 0,036		
venlafaxine	0,167 ± 0,065		
carbamazépine	0,397 ± 0,018	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 800-900 rpm dopage = 2 - 10 $ng.mL^{-1}$ T = 15 °C	
N-desméthylcitalopram	0,598 ± 0,044		
fluoxétine	0,694 ± 0,009		
ibuprofène	0,254 ± 0,019		
naproxène	0,298 ± 0,016		
O-desméthylvenlafaxine	0,158 ± 0,060		
paracétamol	0,111 ± 0,016		
paroxétine	0,942 ± 0,044		
sertraline	0,622 ± 0,026		
venlafaxine	0,388 ± 0,038		
carbamazépine	0,561 ± 0,024	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 800-900 rpm dopage = 2 - 10 $ng.mL^{-1}$ T = 25 °C	
N-desméthylcitalopram	0,707 ± 0,024		
fluoxétine	0,974 ± 0,045		
ibuprofène	0,348 ± 0,052		
naproxène	0,392 ± 0,024		
O-desméthylvenlafaxine	0,396 ± 0,026		
paracétamol	0,145 ± 0,033		
paroxétine	0,987 ± 0,082		
sertraline	0,868 ± 0,054		
venlafaxine	0,521 ± 0,033		
carbamazépine	0,235 ± 0,046	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 60 rpm dopage = 2 - 10 $ng.mL^{-1}$ T = 25 °C	
N-desméthylcitalopram	0,355 ± 0,035		
fluoxétine	0,433 ± 0,058		
ibuprofène	0,197 ± 0,013		
naproxène	0,200 ± 0,037		
O-desméthylvenlafaxine	0,179 ± 0,082		
paracétamol	ND		
paroxétine	0,605 ± 0,023		
sertraline	0,471 ± 0,044		
venlafaxine	0,104 ± 0,039		
carbamazépine	0,1	*in situ* dans eau de surface	(Zhang et al., 2008)
diclofénac	0,12		
carbamazépine	0,21	*in situ* dans eau d'épuration	
diclofénac	0,16		
kétoprofène	0,128 ± 0,007	*batch* fermé dans aquarium (inox) de 20L sous agitation (hélicoïdale) dans eau robinet dopée à 10 $\mu g.L^{-1}$ — T=20°C ; vélocité = 0,11 m/s	(Bailly et al., 2013)
	0,234 ± 0,010	T=20°C ; vélocité = 0,29 m/s	
	0,144 ± 0,009	T=15°C ; vélocité = 0,29 m/s	
	0,243 ± 0,008	T=25°C ; vélocité = 0,29 m/s	
	0,206 ± 0,001	T=25°C ; vélocité = 0,16 m/s	
	0,149 ± 0,006	même montage dans effluent de station d'épuration ; T=25°C ; vélocité = 0,16 $m.s^{-1}$	

rpm : rotation par minute

TABLEAU 3.2 – Revue bibliographique des conditions expérimentales d'étalonnage et des constantes d'étalonnage (R_s) pour certaines des molécules sélectionnées (suite)

molécule	R_s ($L.j^{-1}$)	conditions d'étalonnage	référence
carbamazépine	0,226 ± 0,028	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 800-900 rpm dopage = 2 - 10 $ng.mL^{-1}$ T = 25 °C pH = 3	(Li et al., 2011)
citalopram	0,120 ± 0,006		
N-desméthylcitalopram	0,377 ± 0,008		
fluoxétine	0,289 ± 0,032		
ibuprofène	1,02 ± 0,11		
naproxène	1,18 ± 0,20		
paroxétine	0,213 ± 0,025		
sertraline	0,321±0,046		
venlafaxine	0,071±0,020		
carbamazépine	0,354 ± 0,042	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 800-900 rpm dopage = 2 - 10 $ng.mL^{-1}$ T = 25 °C pH = 7	
citalopram	0,445 ± 0,041		
N-desméthylcitalopram	0,362 ± 0,028		
fluoxétine	0,502 ± 0,025		
ibuprofène	0,100 ± 0,008		
naproxène	0,113 ± 0,034		
paroxétine	0,573 ± 0,006		
sertraline	0,729±0,048		
venlafaxine	0,287±0,053		
carbamazépine	0,372 ± 0,003	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 800-900 rpm dopage = 2 - 10 $ng.mL^{-1}$ T = 25 °C pH = 9	
citalopram	0,561 ± 0,091		
N-desméthylcitalopram	0,471 ± 0,059		
fluoxétine	0,596 ± 0,074		
ibuprofène	0,214 ± 0,018		
naproxène	0,117 ± 0,005		
paroxétine	0,618 ± 0,025		
sertraline	0,748±0,055		
venlafaxine	0,372±0,085		
carbamazépine	0,360 ± 0,037	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 800-900 rpm dopage = 2 - 10 $ng.mL^{-1}$ T = 25 °C pH = 7 DOM = 3,33 $mg.L^{-1}$	
citalopram	0,586 ± 0,059		
N-desméthylcitalopram	0,452 ± 0,055		
fluoxétine	0,553 ± 0,079		
ibuprofène	0,360 ± 0,041		
naproxène	0,363 ± 0,022		
paroxétine	0,718 ± 0,101		
sertraline	0,604 ± 0,046		
venlafaxine	0,377 ± 0,067		
carbamazépine	0,417 ± 0,075	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 800-900 rpm dopage = 2 - 10 $ng.mL^{-1}$ T = 25 °C pH = 7 DOM = 3,86 $mg.L^{-1}$	
citalopram	0,548 ± 0,046		
N-desméthylcitalopram	0,516 ± 0,011		
fluoxétine	0,664 ± 0,025		
ibuprofène	0,413 ± 0,028		
naproxène	0,348 ± 0,032		
paroxétine	0,615 ± 0,017		
sertraline	0,618 ± 0,018		
venlafaxine	0,340 ± 0,003		
carbamazépine	0,404 ± 0,012	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 800-900 rpm dopage = 2 - 10 $ng.mL^{-1}$ T = 25 °C pH = 7 DOM = 4,92 $mg.L^{-1}$	
citalopram	0,636 ± 0,034		
N-desméthylcitalopram	0,595 ± 0,017		
fluoxétine	0,658 ± 0,013		
ibuprofène	0,438 ± 0,020		
naproxène	0,337 ± 0,014		
paroxétine	0,578 ± 0,039		
sertraline	0,702 ± 0,059		
venlafaxine	0,442 ± 0,009		

DOM : Matière Organique Dissoute

TABLEAU 3.2 – Revue bibliographique des conditions expérimentales d'étalonnage et des constantes d'étalonnage (R_s) pour certaines des molécules sélectionnées (suite)

molécule	R_s ($L.j^{-1}$)	conditions d'étalonnage	référence
alprazolam	0,2	flux continu dans aquarium de 250 L dans eau du robinet agitation (pompe) renouvellement 86 $L.j^{-1}$ dopage de J0 à J18 = 20 – 100 $ng.L^{-1}$ de J18 à J23 = pas de contamination de J23 à J30 = 100 – 600 $ng.L^{-1}$ T = 20°C pH = 7	(Belles et al., 2014)
bromazépam	0,18		
carbamazépine	0,14		
diazépam	0,16		
fluoxétine	0,15		
ibuprofène	0,16		
kétoprofène	0,16		
naproxène	0,18		
nordazépam	0,18		
alprazolam	0,181	flux continu dans aquarium de 250 L dans eau du robinet agitation (pompe) renouvellement 86 $L.j^{-1}$ dopage = 300 $ng.L^{-1}$ de J18 à J23 = pas de contamination de J23 à J30 = 100 – 600 $ng.L^{-1}$ T = 20°C pH = 7	
bromazépam	0,029		
carbamazépine	0,09		
diazépam	0,101		
diclofénac	0,1		
ibuprofène	0,084		
kétoprofène	0,078		
naproxène	0,087		
nordazépam	0,188		
alprazolam	0,40±0,04	flux continu dans aquarium de 27 L dans eau du robinet agitation (hélicoïdale) vitesse agitation = 80 rpm renouvellement = 13,6 $L.j^{-1}$ dopage = 500 $ng.L^{-1}$ T=20°C pH = 7	(Belles, 2012)
bromazépam	0,35±0,06		
carbamazépine	0,26±0,04		
diazépam	0,28±0,01		
diclofénac	0,08±0,06		
fluoxétine	0,17±0,09		
kétoprofène	0,21±0,03		
naproxène	0,18±0,03		
nordazépam	0,37±0,05		
carbamazépine	0,25 / 0,25 / 0,21	flux continu dans aquarium de 27 L dans eau de mer artificielle agitation (hélicoïdale) vitesse agitation = 120 rpm renouvellement = 13,6 $L.j^{-1}$ dopage = 200 $mL.j^{-1}$ d'une solution à ≈ 120 $mg.L^{-1}$ T=19°C pH = 7 / 5 / 10 salinité = 0 PSU	
diazépam	0,38 / 0,38 / 0,37		
diclofénac	0,06 / 0,09 / 0,04		
ibuprofène	0,19 / 0,22 / 0,06		
kétoprofène	0,16 / 0,24 / 0,09		
nordazépam	0,37 / 0,35 / 0,34		
paracétamol	ND		
carbamazépine	0,22 / 0,23	flux continu dans aquarium de 27 L dans eau de mer artificielle agitation (hélicoïdale) vitesse agitation = 120 rpm renouvellement = 13,6 $L.j^{-1}$ dopage = 200 $mL.j^{-1}$ d'une solution à ≈ 120 $mg.L^{-1}$ T=19°C pH = 7 salinité = 15 PSU / 35 PSU	
diazépam	0,35 / 0,36		
diclofénac	0,07 / 0,12		
ibuprofène	0,24 / 0,16		
kétoprofène	0,21 / 0,14		
nordazépam	0,36 / 0,40		
paracétamol	ND		
cocaïne	0,130 ± 0,036	*batch* fermé dans béchers de 4L dans eau distillée agitation (barreau magnétique) vitesse agitateur = 800-900 rpm dopage ≈ 1 µg. L^{-1} T = 25 °C pH = 7	(Yargeau et al., 2013)
benzoylecgonine	0,134 ± 0,011		
MDA	0,288 ± 0,021		
MDMA	0,222 ± 0,013		
codéine	0,394 ± 0,049		
morphine	0,261 ± 0,036		
méthadone	0,408 ± 0,147		
tramadol	0,241 ± 0,062		
oxycodone	0,152 ± 0,039		
EDDP	0,532 ± 0,193		

TABLEAU 3.2 – Revue bibliographique des conditions expérimentales d'étalonnage et des constantes d'étalonnage (R_s) pour certaines des molécules sélectionnées (suite)

L'étude bibliographique conduite fournit plus de 200 valeurs de R_s pour 30 molécules. Néanmoins, le nombre d'informations disponibles pour chaque analyte n'est pas forcément comparable. Aussi, la carbamazépine, le diclofénac, l'ibuprofène, le kétoprofène, le naproxène et le paracétamol sont les molécules les plus étudiées parmi celles citées dans le TABLEAU 3.2.

Typiquement, les valeurs des taux d'échantillonnage varient entre 0,1 et 0,4 $L.j^{-1}$. Les taux d'échantillonnage supérieurs ont été principalement rapportés pour les antidépresseurs ISRS et plus particulièrement pour la fluoxétine, la paroxétine et la sertraline qui font partie des molécules les plus apolaires de l'étude. Les taux d'échantillonnages inférieurs à 0,1 $L.j^{-1}$ ont quant à eux principalement été observés sous certaines conditions pour le paracétamol et les AINS.

Une observation plus approfondie des valeurs des taux d'échantillonnages molécule par molécule révèle parfois de grandes disparités. Des écarts de 1 à 10 fois la valeur rapportée voire plus peuvent par exemple être constatés dans le cas du bromazépam (Belles, 2012; Soulier, 2012), de la fluoxétine (Belles et al., 2014; MacLeod et al., 2007b), de l'ibuprofène (Belles, 2012; MacLeod et al., 2007b) ou du naproxène (Li et al., 2011; MacLeod et al., 2007b). De plus des différences importantes dans les taux d'échantillonnage peuvent également être rapportées pour un même auteur selon les études. Les valeurs de Rs rapportées pour la venlafaxine par Li *et al.* varient par exemple de 0,071 (Li et al., 2011) à 0,521 $L.j^{-1}$ (Li et al., 2010a) dans des conditions expérimentales comparables .

1.3.1. Facteurs d'influence dans le calcul des taux d'échantillonnage

Plusieurs types d'expériences d'étalonnage des POCIS en laboratoire sont utilisés pour la caractérisation des taux d'échantillonnage des composés analysés. Les systèmes clos constituent les montages expérimentaux les plus simples à mettre en œuvre. Ils utilisent généralement des contenants de faibles volumes (1-3 L) qui peuvent être dopés initialement (calibration statique) ou renouvelés à intervalles réguliers (calibration renouvelée) (Harman et al., 2012b). Ces méthodes offrent l'avantage d'être facilement adaptables, peu onéreuses, et de pouvoir faire varier la matrice d'exposition. En revanche, elles ne permettent pas de tenir compte des mouvements d'eaux et les systèmes d'agitation (magnétique ou hélice) utilisés en calibration statique peuvent être considérés comme peu représentatifs de conditions environnementales (Morin et al., 2012). Les expériences de calibration en système ouvert (>20L) avec dopage continu sont plus complexes à mettre en œuvre mais permettent une exposition de l'ensemble des POCIS dans des conditions comparables. De plus, dans ce type de montage, la circulation de l'eau est plus représentative des conditions environnementales. Les principaux inconvénients de ces systèmes résident dans la difficulté à maitriser les paramètres d'exposition durant toute la durée de l'étalonnage ainsi que dans les phénomènes d'adsorption sur les parois des aquariums d'exposition et de biofouling.

Les facteurs environnementaux peuvent avoir des effets importants sur les taux d'échantillonnage des POCIS. En 2012, Harman *et al.* ont discuté ces aspects dans une revue bibliographique (Harman et al., 2012b). Le TABLEAU 3.3 rassemble les observations rapportées dans la littérature pour une large gamme de micropolluants concernant ces effets. Ceux-ci comprennent la température, l'agitation, le fouling, le pH, la salinité ainsi que la présence de matière organique dissoute.

facteur	gamme	effets sur le R_s	analytes (nombre)	[réf.]
température	10-20°C	augmentation < x 1,5	hormones (1)	[1]
	15-21°C	augmentation x 1-2	pharmaceutiques (12)	[2]
	5-25°C	augmentation < x 2 (majoritairement)	pharmaceutiques/PCP/EDC (29)	[3]
agitation	statique-agité	augmentation x 4-9	pharmaceutiques/pesticides (6)	[4]
	statique-agité	augmentation x 4-5	toxines naturelles (2)	[5]
	2,6-37 $cm.s^{-1}$	augmentation < x 2 (majoritairement)	pharmaceutiques/PCP/EDC (24)	[6]
	statique-agité	augmentation < x 3 (majoritairement)	pharmaceutiques/PCP/EDC (29)	[7]
	3-12 $cm.s^{-1}$	augmentation < x 7 (majoritairement)	pharmaceutiques/PCP (25)	[8]
fouling	0,2-1,5 vs 0,5-2,4 g/dm^2	augmentation < x 1,5 (majoritairement)	alkylphénols (21)	[9]
pH	3,7-9	molécule dépendant[a]	pharmaceutiques/PCP/EDC (21)	[10]
	4-10	similaire	EE2/BPA/NC (4)	[11]
	5-10	molécule dépendant[b]	pharmaceutiques / pesticides (45)	[12]
salinité	0-35 PSU	légère diminution < x 0,4	pharmaceutiques (13)	[2]
	0-35 PSU	similaire	NC (4)	[11]
	0-35 PSU	similaire (majoritairement)	pharmaceutiques / pesticides (45)	[12]
DOM	3-5 $mg.L^{-1}$	pas significatif	pharmaceutiques/PCP/EDC (21)	[10]
NOM	0,5-5 $mg.L^{-1}$	pas significatif	pesticides (5)	[13]

[a] : (augmentation < x3 lorsque le pH augmente pour les composés basiques et diminution pour les composés acides)
[b] : (laugmentation lorsque le pH augmente pour les composés basiques et diminution < x2 pour les composés acides)
PCP : Personal Care Products (produits cosmétiques et d'entretien) ; EDC : Endocrine Disrupting Compounds (perturbateurs endocriniens) ; EE2 : 17∝-éthinylestradiol ; BPA : Bisphénol A ; NC : non communiqué ; PSU : Unité de Salinité Pratique ; DOM : Matière Organique Dissoute ; NOM : Matière Organique Naturelle
[1] : (Matthiessen et al., 2006) ; [2] : (Togola et al., 2007b) ; [3] : (Rujiralai et al., 2011) ; [4] : (Alvarez et al., 2004) ; [5] : (Kohoutek et al., 2010) ; [6] : (Li et al., 2010b) ; [7] : (Li et al., 2010a) ; [8] : (MacLeod et al., 2007b) ; [9] : (Harman et al., 2009) ; [10] : (Li et al., 2011) ; [11] : (Zhang et al., 2008) ; [12] : (Belles, 2012); [13] : (Charlestra et al., 2012)

TABLEAU 3.3 – Effets des facteurs environnementaux sur les taux d'échantillonnage de micropolluants organiques par des POCIS (adapté de (Harman et al., 2012b))

La vélocité de l'eau autour du POCIS semble être le facteur influant susceptible d'impacter le plus fortement les taux d'échantillonnage. Les études citées en TABLEAU 3.3 rapportent des facteurs multiplificatifs allant de 2 à 9. Les auteurs précisent cependant qu'il est difficile de généraliser ces observations dans le sens ou les autres paramètres, comme la température (différente d'une étude à l'autre), peuvent également avoir un effet sur les R_s (Harman et al., 2012b). Ils ajoutent également que l'agitation en milieu clos ne reproduit pas de façon représentative des phénomènes se produisant à la surface du POCIS en milieu naturel (Harman et al., 2012b). Ceci étant dit, l'augmentation constatée des taux d'échantillonnage avec la turbulence du milieu pourrait s'expliquer par une réduction de la couche limite de diffusion aqueuse à la surface de POCIS. Par ailleurs, il est supposé que l'épaisseur de la couche limite se réduirait jusqu'à un seuil à partir duquel l'augmentation de la turbulence n'affecterait plus les R_s (Alvarez et al., 2007). Ainsi, à ce stade, la diffusion à travers la couche limite d'eau ne contrôlerait plus le mécanisme d'échantillonnage.

La température est également susceptible d'affecter les taux d'échantillonnage dans des proportions généralement inférieures à un facteur à 2. Togola *et al.* ont par exemple caractérisé les R_s de plusieurs composés pharmaceutiques à 21°C et à 15°C. Une augmentation des R_s a été observée avec l'augmentation de température pour le diazépam, le nordazépam et les AINS dont notamment le kétoprofène qui affiche le changement le plus marqué parmi les analytes étudiés (+100%) (Togola et al., 2007b). Dans ces conditions, seule la carbamazépine ne montre aucune différence significative dans la valeur de son taux d'échantillonnage (Togola et al., 2007b).

Enfin, les effets d'autres facteurs comme le pH ou la salinité sont plus molécules dépendant et peuvent dans certains cas avoir un effet sur la valeur du taux

d'échantillonnage. Les effets liés au pH sont relatifs aux propriétés physico-chimiques des molécules analysées. Ainsi, aucun effet significatif n'a été observé pour les molécules dont l'état d'ionisation n'est pas affecté dans la zone de pH considérée. En revanche pour les composés acides, une augmentation du pH résulte en une diminution du R_s. Belles *et al.* ont par exemple montré que le taux d'échantillonnage du naproxène était divisé par deux lorsque le pH passait de 7 à 10 (Belles, 2012). A l'inverse, une augmentation des taux d'échantillonnage est constatée pour les composés basiques lorsque le pH augmente. Li *et al.* ont par exemple observé que le taux d'échantillonnage du citalopram était multiplié par un facteur 4 à 5 selon que le pH était à 3,7 ou à 9 (Li et al., 2011). La salinité semble impacter plus faiblement les taux d'échantillonnage pour les composés pharmaceutiques (Belles, 2012; Togola et al., 2007b). Certains composés parmi les plus hydrophobes montrent une diminution de leur R_s entre 0 et 35 PSU. A titre d'exemple, dans ces conditions, une diminution de plus de 40% du taux d'échantillonnage de la fluoxétine (log K_{ow}=4,35) a été observé (Togola et al., 2007b).

Les conditions environnementales sont donc susceptibles d'influencer fortement la cinétique d'accumulation des contaminants dans les POCIS et par conséquent leur capacité à fournir des données de mesures quantitatives fiables. Afin de compenser ces phénomènes, le recours à des PRC est envisagé.

1.3.2. Les PRC : Performances Reference Compounds

Pour corriger les effets, non maitrisables, des facteurs environnementaux sur les constantes d'étalonnage des composés de références peuvent être ajoutés à la phase réceptrice des échantillonneurs avant déploiement dans le milieu (Lissalde, 2010). Les *Performance Reference Compounds* (PRC) sont des composés témoins absents du milieu dont le comportement est similaire à la molécule à quantifier (idéalement l'analogue marqué isotopiquement). Ils sont introduits en quantité connue à la phase adsorbante de l'échantillonneur et l'étude de leur désorption permet d'établir un facteur de correction (Harman et al., 2012a). En effet, comme l'illustre la FIGURE 3.6, la désorption des PRC doit est proportionnelle à l'adsorption du contaminant à échantillonner et ce quelles que soient les conditions d'exposition. L'utilisation de PRC implique donc un échange dit isotrope c'est-à-dire que les échanges cinétiques entre l'échantillonneur et l'eau soient régis par les mêmes lois (Belles, 2012).

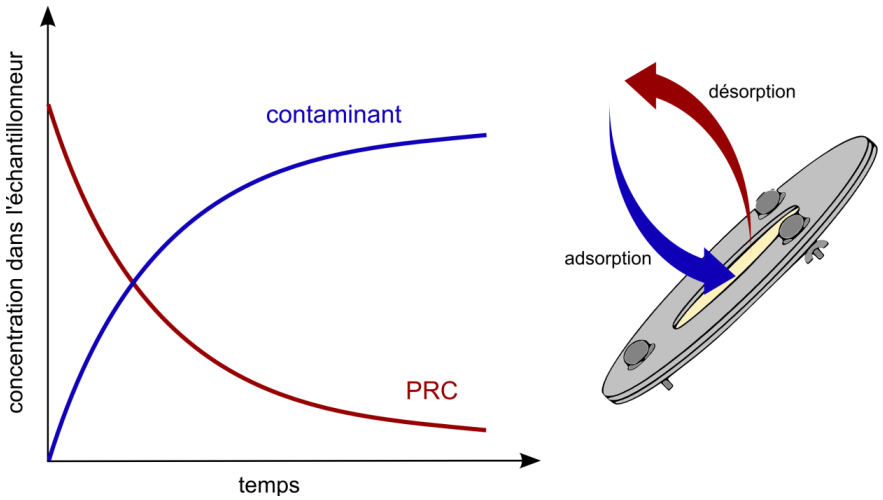


FIGURE 3.6 – Représentation de l'adsorption d'un contaminant et de la désorption d'un PRC (adapté de (Belles, 2012))

2. Méthode analytique pour l'étalonnage des POCIS en laboratoire

Les paragraphes suivant décrivent la méthodologie mise en œuvre afin de déterminer la cinétique d'accumulation des analytes sur les échantillonneurs lors de leur étalonnage en laboratoire. Le mot *« calibration »* est parfois employé, y compris en français, pour désigner ce type d'expérience. L'utilisation du terme étalonnage n'est ici qu'une simple traduction.

2.1. Molécules analysées

Pour des raisons pratiques, l'ensemble des molécules sélectionnées à l'issue de la phase 1 (chapitre 1), et ayant fait l'objet de développement par approche multirésidus (chapitre 2), n'a pas pu être intégré à l'expérience. Par conséquent, une liste représentative de 47 analytes a été choisie (TABLEAU 3.4).

	pKa [a]	log K_{ow} [a]	log D_{ow} [a] (pH 7,4)
Anti-Alzheimer			
donépézil	8,7	3,87	2,79
galantamine	8,9	1,28	0,92
mémantine	10,5	3,56	0,56
rivastigmine	8,6	2,35	1,08
Antiépileptiques			
carbamazépine	14,3	2,17	2,28
gabapentine	3,8-10,4	1,03	-1,4
oxcarbazépine	14,2	2	1,87
10,11-dihydroCBZ [b]	12,7	0,71	0,45
Antidépresseurs			
citalopram	9,4	3,72	1,27
fluoxétine	9,6	4,35	1,75
miansérine	8,3	3,57	3,23
O-desméthylvenlafaxine	8,4-10,1	2,93	0,9
paroxétine	9,7	3,57	1,46
métabolite paroxétine [c]	9,3-10,3	3,28	1
tianeptine	4,8-7,1	3,82	0,65
venlafaxine	8,4	3,33	1,43
Benzodiazépines et *"Z-drugs"*			
alprazolam	5,7	2,65	2,63
bromazépam	2,68-12,24	2,18	2,09
clonazépam	2,1-10,6	2,57	2,53
diazépam	3,4	3,11	2,92
lorazépam	1-11,3	2,5	2,49
lormetazépam	1-13,6	2,61	2,57
oxazépam	1,8-11,5	2,01	2,06
prazépam	3,4	3,49	3,53
tétrazépam	3,8	3,5	3,36
ac. zolpidem 6-carbox.[d]	4-6,3	1,99	-0,92
ac. zolpidem 4-ph.-carbox.[e]	3,4-6,3	2,63	-0,37
zopiclone	6,8	1,14	0,56
zopiclone-N-oxyde	4,3	-0,49	-1,02
3-hydroxybromazépam	5,3	2,13	1,81

	pKa[a]	log K_{ow} [a]	log D_{ow} [a] (pH 7,4)
Substances illicites			
benzoylecgonine	2,9-9,2	2,03	-0,21
cocaéthylène	8,6	2,9	1,5
cocaïne	8,6	2,64	1,21
méphédrone	8,5	1,91	1,59
mCPP	8,5	2,09	0,91
MDA	9,5	1,62	-0,8
MDMA	9,9	1,99	-0,77
Opiacés et opioïdes			
buprénorphine	8,3-9,8	4,88	3,48
codéine	8,2	1,22	0,28
EDDP	8,8	5,01	3,33
méthadone	8,7	4,53	2,8
morphine	8,2-9,7	0,79	-0,14
norcodéine	9,1	0,87	-1,07
oxycodone	8,1	0,62	0,45
tramadol	9,2	2,55	0,52
Autre			
méprobamate	11,7	0,87	0,82
Autres médicaments de consommation courante			
2-hydroxyibuprofène	4,3	2,73	-0,51

[a] : calculé avec ACD/Percepta 14.0.0, Advanced Chemistry Development Inc. (www.acdlabs.com)

[b] : 10,11-dihydro-10,11-dihydroxy-carbamazépine

[c] : (-)-trans-4-[4-(4'-fluorophenyl)-3-piperidinylmethoxy]-2-méthoxyphénol

[d] : acide zolpidem 6-carboxylique

[e] : acide zolpidem 4-phényl-carboxylique

TABLEAU 3.4 – Noms et paramètres physico-chimiques des molécules choisies pour l'étalonnage des POCIS

2.2. Analyse des eaux

Durant l'expérience d'étalonnage, la concentration en analytes dans l'eau à laquelle les échantillonneurs sont exposés a été mesurée à intervalles de temps réguliers. Les échantillons prélevés ont tous été stockés à -20°C jusqu'à leur extraction et analyse. Le protocole SPE-LC-MS² décrit en chapitre 2 leur a été appliqué en intégralité.

2.3. Montage, extraction et analyse des POCIS

2.3.1. Montage

Chaque POCIS présente une surface d'échantillonnage de 45,8 cm² et 5,4 cm de diamètre interne. Ils ont tous été confectionnés au laboratoire en emprisonnant environ 200mg de phase Oasis® HLB (diamètre de particule = 60µm) entre deux membranes en PES (diamètre de pore = 0,1 µm). Comme décrit précédemment (chapitre 2) l'utilisation de support d'extraction de type polymérique mixte telle que la phase Oasis® MCX offre une plus grande sélectivité envers des composés basiques. Toutefois le mécanisme de rétention de ces composés par échange de cations induit une acidification de l'échantillon. Cela n'est bien évidemment pas envisageable dans le cas de prélèvement *in situ*. C'est la raison pour laquelle, le support Oasis® HLB a été choisi dans le cadre du développement des échantillonneurs intégratifs.

Préalablement au montage, chaque membrane a été nettoyée par trois bains successifs de 10 minutes dans le méthanol puis séchées à l'étuve (50°C). La phase réceptrice est également nettoyée par trois bains successifs de 10 minutes dans le méthanol. Le solvant est ensuite évaporé sous évaporateur rotatif à pression atmosphérique et la phase séchée au bain marie à 50° pendant au moins 12 h (Belles, 2012).

2.3.2. Protocoles d'extraction POCIS : phase adsorbante et membrane

Après exposition, chaque POCIS a été stocké dans un papier aluminium à l'obscurité à -20°C jusqu'au moment de l'extraction. Chaque échantillonneur a ensuite été démonté et la phase réceptrice a été transférée dans une cartouche SPE en verre de 6cc à l'aide d'un entonnoir, d'une pipette pasteur et d'un faible volume d'eau de Vittel®. Une fois l'opération effectuée, la phase est ensuite séchée sous vide (20 minutes environ) avant l'étape d'élution. Celle-ci se réalise par le passage successif à travers la phase de 10 mL de méthanol, 10 mL d'un mélange méthanol/dichlorométhane (1/1 : v/v), et 10 mL de dichlorométhane. Ce protocole utilise un volume important de solvants de différentes polarités afin de couvrir un large spectre d'élution (Belles, 2012).

L'observation des quantités de composés adsorbées sur la membrane en PES permet dans certains cas de mieux comprendre les profils d'accumulation. Pour cette raison une extraction qualitative a été réalisée dans 15 mL de méthanol pendant 24h à 20°C. L'extrait a ensuite été reconcentré avant analyse.

2.3.3. Analyse

Les éluats ont ensuite été dopés avec 30 µL d'un mélange de concentration connue (≈150 ng.g^{-1}) d'étalons internes marqués avant d'être évaporés puis repris dans 200 µL d'un mélange eau/méthanol (90/10) pour analyse LC-MS² en suivant le protocole décrit dans le chapitre 2.

2.4. Caractérisation du rendement d'extraction de la phase adsorbante

Un échantillon de 200 mg de phase HLB® dopée par environ 70 ng de chaque d'analyte a été extraite en suivant le protocole décrit dans le paragraphe précédent.

Ainsi, les rendements d'extraction ont été calculés, par le rapport entre la concentration mesurée dans la phase avec la concentration théorique. La FIGURE 3.7 présente les rendements déterminés dans des conditions de fidélité intermédiaire.

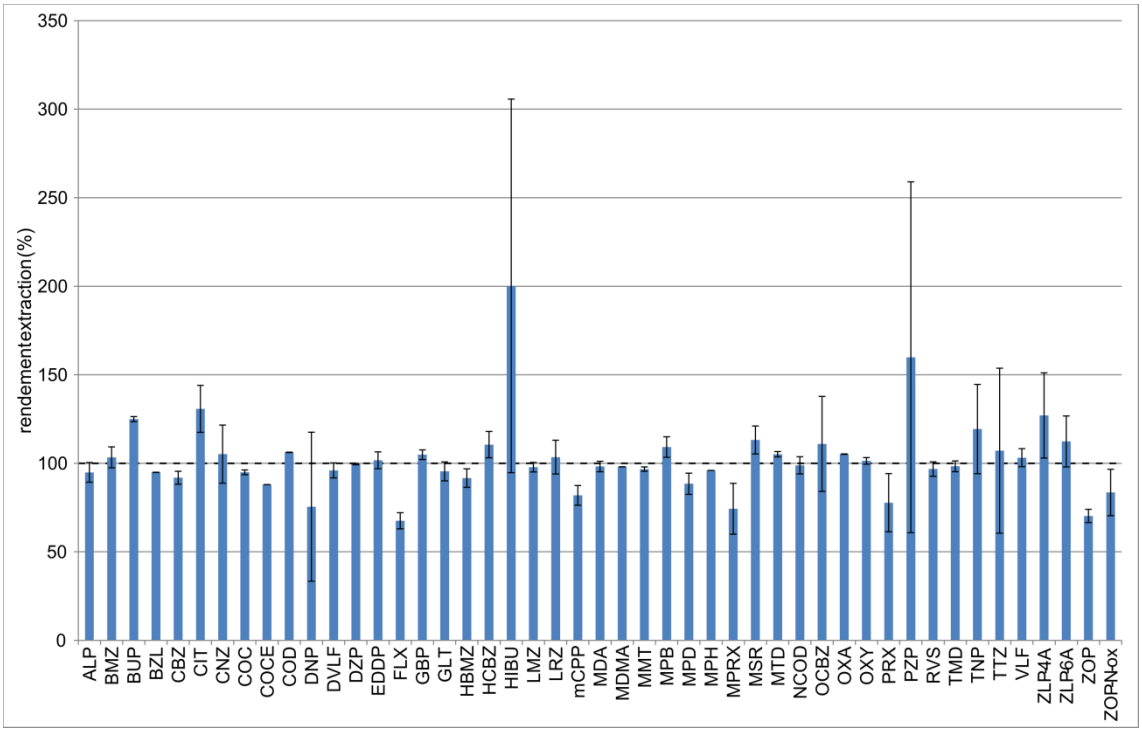


FIGURE 3.7 – Rendements d'extraction (n=2) de la phase POCIS dopée à environ 0,35 ng.mg^{-1} de phase

Les rendements d'extraction étaient compris entre 67 et 127% pour 44 composés sur les 47 étudiés avec une valeur moyenne de 102 %. Les dispersions sont inférieures à 10% pour 34 des analytes et sont compris entre 10 et 30 % pour 9 autres. Le donépézil, le tétrazépam, le prazépam et l'hydroxyibuprofène affichent des variations pouvant aller jusqu'à 60%. Les résultats concernant ces molécules devront donc être considérés avec prudence. Aucun de ces composés n'est quantifié par son homologue marqué ce qui aurait pu améliorer leur quantification. Le protocole d'extraction n'a pas été optimisé spécifiquement pour les analytes considérés. Il s'agit d'une méthode générale également utilisé pour l'extraction d'autres types de molécules

(Belles, 2012; Budzinski et al., 2012). Dans ces conditions la méthode d'extraction adoptée présente un compromis satisfaisant pour une première approche. Celle-ci pourra être éventuellement améliorée notamment par l'ajout d'étalons internes appropriés.

Les valeurs des rendements d'extraction ont été prises en compte dans le calcul des concentrations POCIS exprimées en $ng.g^{-1}$.

3. Etalonnage en laboratoire de POCIS pour l'analyse des psychotropes sélectionnés

L'expérience d'étalonnage en laboratoire a été réalisée afin de répondre à trois objectifs concernant les composés analysés :

- définir leur l'affinité avec l'échantillonneur
- déterminer leur régime d'accumulation
- déterminer leurs constantes d'étalonnage : CF, k_u et R_s

3.1. Conditions expérimentales

La FIGURE 3.8 schématise le montage expérimental en flux continu et à concentration constante mis en œuvre afin d'étalonner les POCIS.

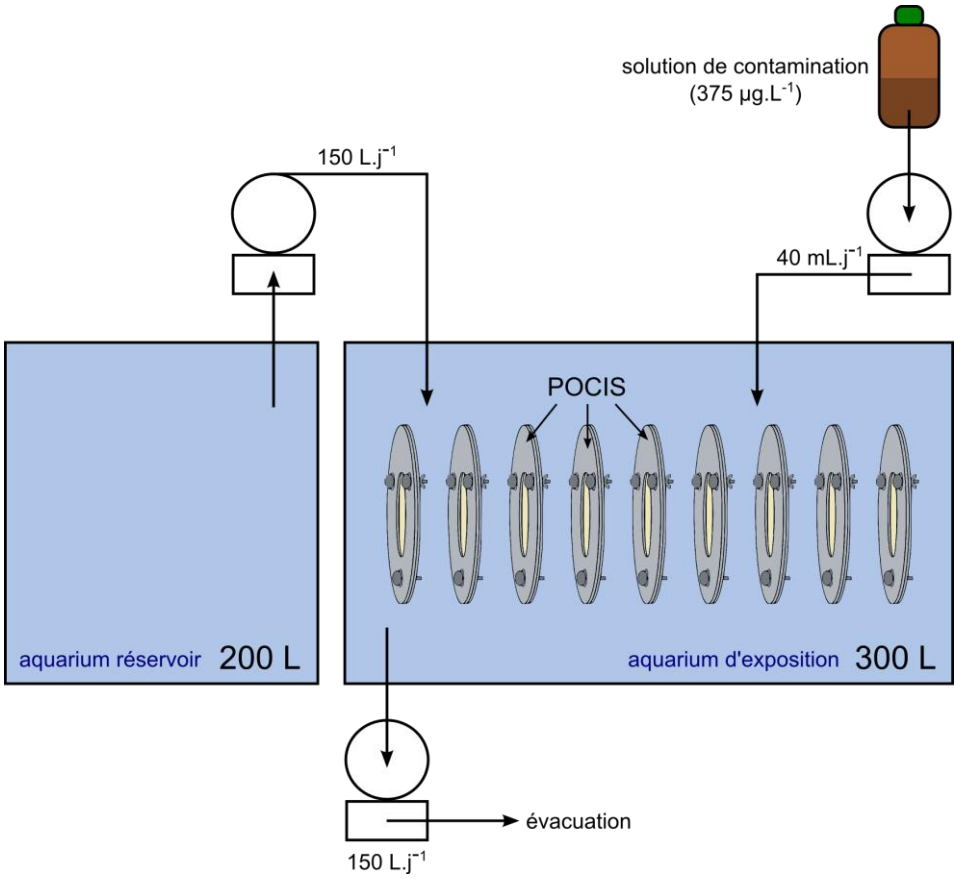


FIGURE 3.8 – Schéma du montage expérimental pour la calibration des POCIS par exposition en flux continu

Plus précisément, le système mis en œuvre consistait en un aquarium contenant 300 L d'eau du robinet (pH ≈ 7) maintenus sous agitation grâce à une pompe électrique submersible. Un dopage initial à environ 100 ng.L^{-1} a été réalisé en laissant le système clos s'équilibrer durant 5 jours. A la suite de cette période de stabilisation, la mise en circulation de l'eau au sein du bassin a été initiée. Aussi, afin

de maintenir l'aquarium à un volume constant, le flux d'eau a été assuré par deux pompes péristaltiques, la première apportant de l'eau « fraiche » contenue dans un aquarium tampon de 200 L, la seconde acheminant le surplus d'eau vers un système de purification sur charbon actif avant évacuation. Ces pompes ont été réglées pour obtenir un taux de renouvellement de 50% c'est-à-dire de 150 $L.j^{-1}$. Un dopage constant de l'aquarium à 15 $\mu g.j^{-1}$ a été obtenu grâce à l'apport de 40 $mL.j^{-1}$ en solution contaminante à environ 375 $\mu g.L^{-1}$ garanti par un pousse seringue automatique. Le système a été laissé dans l'obscurité à une température de 20°C environ. Au total 36 POCIS ont été immergés dans l'aquarium.

3.2. Plan de prélèvements

Au total, l'expérience a duré 30 jours. Des prélèvements d'eau ont été effectués tous les 2 jours durant toute la période d'exposition ceux des POCIS (triplicat) ont eu lieu aux dates indiquées en FIGURE 3.9.

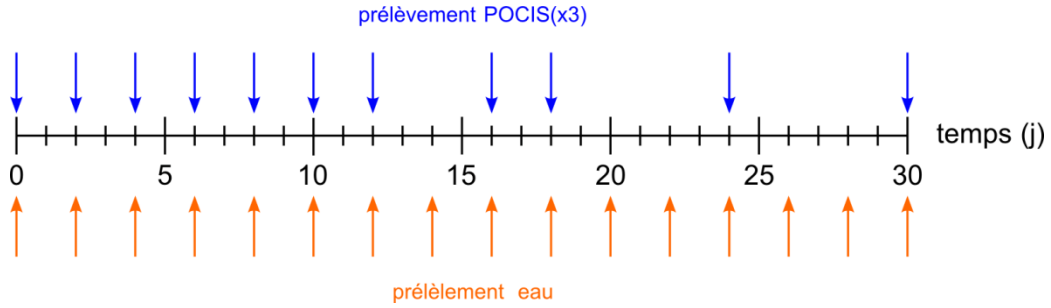


FIGURE 3.9 – Prélèvement des POCIS au cours de l'expérience d'étalonnage

Comme indiqué dans la partie précédente, l'ensemble des eaux et des POCIS prélevés durant l'expérience a été stocké à -20°C. L'ensemble des échantillons a ensuite été extrait puis analysé dans des conditions isochrones. Des contrôles qualités : échantillons d'eau du robinet non dopée, blanc POCIS, eau du robinet dopée à 70$ng.L^{-1}$ et phase HLB dopée à 0,35 $ng.mg^{-1}$ ont également été mis en place afin de fiabiliser les processus de quantification.

3.3. Résultats

3.3.1. Profils non exploités

Les profils d'accumulation pour l'oxcarbazépine, la mCPP, le (-)-trans-4-[4-(4'-fluorophenyl)-3-piperidinylmethoxy]-2-methoxyphénol, le zopiclone et le zopiclone-N-oxyde n'ont pu être considérés dans ce travail. En effet, les concentrations mesurées et leur variabilité au cours de l'expérience n'ont pas été jugées comme satisfaisantes pour autoriser leur exploitation. A titre d'exemple, l'oxcarbazépine dont les développements présentés en chapitre 2 ont montré qu'elle était sensible à la présence de chlore, a par exemple été mesurée à une concentration moyenne de 9 ± 3 $ng.L^{-1}$ (soit moins de 10% de la valeur théorique). Pour les 4 composés concernés, les POCIS seront donc utilisés à des fins qualitatives.

3.3.2. Profils non linéaires

Des profils d'accumulation non linéaires ont été observés pour 3 composés : la MDA, l'hydroxyibuprofène et la gabapentine. Il semblerait que ces analytes tendent rapidement vers un état d'équilibre. Par ailleurs, ils présentent tous des facteurs de concentration faibles. Celui-ci est par exemple inférieur à 6 $L.g^{-1}$ pour la MDA (FIGURE 3.10). Pour la gabapentine et l'hydroxyibuprofène, ils sont respectivement inférieurs à 0,05 $L.g^{-1}$ et 0,1 $L.g^{-1}$). L'utilisation quantitative des POCIS n'a pas été envisagée pour ces analytes.

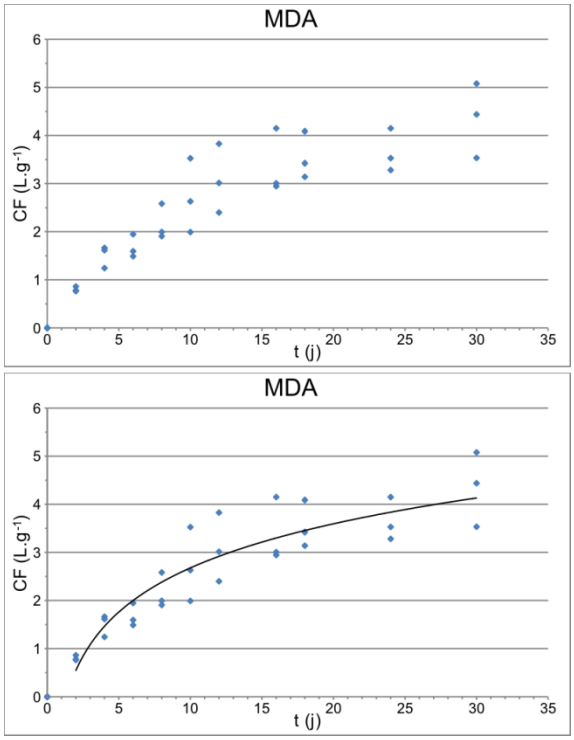


FIGURE 3.10 – Exemple d'un profil d'accumulation non linéaire : cas de la MDA

3.3.3. Profils avec *lag time*

La FIGURE 3.11 illustre par deux exemples des profils d'accumulation ainsi que les partitions entre la membrane/phase obtenus pour des molécules présentant un lag time.

L'observation des partitions des analytes entre la membrane et la phase adsorbante permet d'expliquer la tendance des profils d'accumulation. En effet, en début d'exposition, les analytes sont majoritairement présents dans les membranes (environ 75 % du total). Puis au fur et à mesure de l'exposition, la part de composé présent dans la membrane a tendance à diminuer. Des phénomènes similaires ont été décrits pour d'autres analytes tels que les nonylphénols (Soulier, 2012).

Des « lag time » ont été observés pour 4 composés sur les 47 étudiés : le donépézil, la fluoxétine, la miansérine et la paroxétine. Les taux d'échantillonnage n'ont donc pas été calculés pour ces 4 composés qui font d'ailleurs partie des plus

hydrophobes (log K_{ow} compris entre 3,57 et 4,35). Les partitions membrane/phase pour la fluoxétine et la paroxétine sont présentées en ANNEXE 3.2.

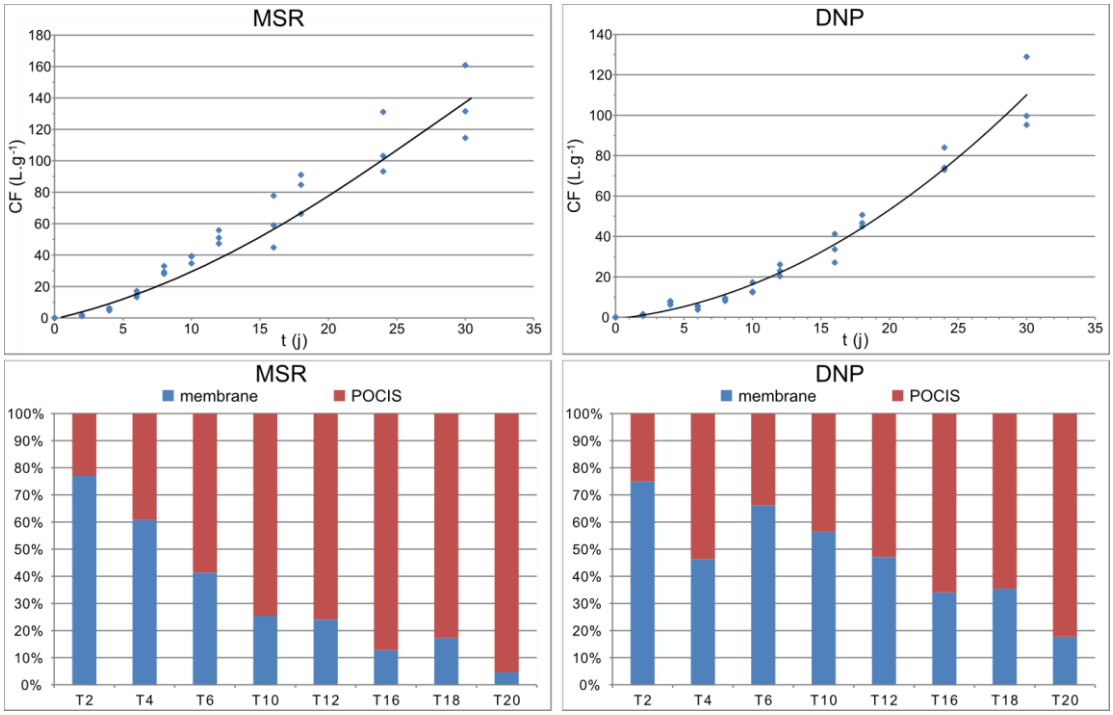


FIGURE 3.11 – Exemple de profils d'accumulation et partition membrane/phase d'analytes avec un « *lag time* » : cas du donépézil et de la miansérine.

3.3.4. Profils linéaires

Plusieurs profils d'accumulation linéaires ont pu être identifiés parmi les analytes étudiés. La FIGURE 3.12 illustre par deux exemples chacun de ces profils.

11 composés affichent une accumulation linéaire des composés dans la phase durant toute la durée de l'exposition. Il s'agit du bromazépam, de la carbamazépine, du citalopram, du clonazépam, de la cocaïne, du lorazépam, la méthadone, la rivastigmine, la tianeptine, le tramadol et la venlafaxine. Pour ces composés, l'utilisation quantitative des POCIS pour la mesure de concentrations moyennées dans l'environnement est possible pour un déploiement pouvant s'étendre jusqu'à 30 jours.

Pour les analytes dont les profils d'accumulation présentent un point d'inflexion, la détermination des taux d'échantillonnage n'est possible qu'à certaines conditions. En effet, l'équation 5 (paragraphe 1.2.4) ne pouvant être appliquée qu'en régime cinétique, le domaine d'application a été restreint sur une gamme de temps pour laquelle le profil d'accumulation est linéaire. Pour ce faire, les distributions des résidus au modèle ont été observées. Ainsi, une gamme de linéarité de 12 jours a par exemple été définie pour le diazépam (FIGURE 3.12). La durée typique d'exposition des POCIS est de 14 jours (Morin et al., 2013). Des gammes de linéarité supérieures à cette période ont été identifiées pour la majorité des composés analysés.

Parmi les 23 molécules affichant un régime d'accumulation curvilinéaire, les taux d'échantillonnages allant de 16 à 24 jours ont pu être calculés pour 11 analytes :

le 3-hydroxybromazépam, la codéine, l'EDDP, le lormetazépam, la mémantine, le méprobamate, l'*O*-desméthylvenlafaxine, l'oxazépam, l'oxycodone, l'acide zolpidem 6-carboxylique et l'acide zolpidem 4-phényl-carboxylique. Ils ont été déterminés pour une période de 12 jours pour 6 autres composés : la cocaéthylène, le diazépam, la MDMA, la morphine, la norcodéine et le tétrazépam. Le R_s du diazépam a quant à lui été calculé pour une période de 10 jours. Enfin, les taux d'échantillonnage n'ont pas été définis lorsque la gamme de linéarité n'excédait pas 4 jours. En effet, dans ces conditions le nombre de points de mesure n'a pas été jugé suffisant pour établir une régression linéaire avec une significativité expérimentale.

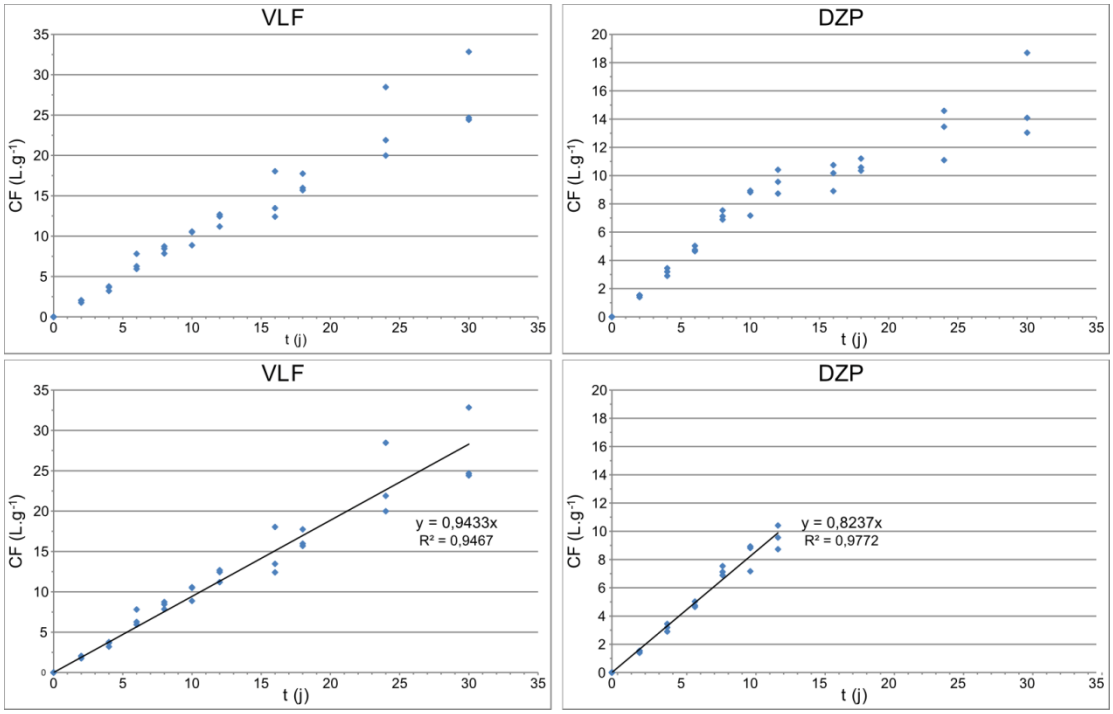


FIGURE 3.12 – Exemple de profils d'accumulation linéaires avec et sans point d'inflexion : cas de la venlafaxine et du diazépam

3.3.5. Détermination des constantes d'étalonnage : R_s

Lorsque cela était possible, les taux d'échantillonnage ont été déterminés par modélisation du facteur de concentration (paragraphe 1.2.4). L'ensemble des résultats de l'expérience d'étalonnage est présenté en TABLEAU 3.5.

Au total, l'expérience conduite au laboratoire a permis de calculer les taux d'échantillonnage R_s de 30 composés psychotropes et métabolites. Ces constantes cinétiques étaient inférieurs à 0,1 $L.j^{-1}$ pour 5 molécules : le méprobamate, l'acide zolpidem 4-phényl-carboxylique, la norcodéine et le tramadol. Les taux d'échantillonnage étaient compris entre 0,1 et 0,2 $L.j^{-1}$ pour 15 autres composés (alprazolam, bromazépam, citalopram, clonazépam, codéine, diazépam, EDDP, galantamine, MDMA, morphine, *O*-desméthylvenlafaxine, oxazépam, rivastigmine, venlafaxine, acide zolpidem 6-carboxylique). Enfin, pour le 3-hydroxybromazépam, la carbamazépine, le citalopram, la cocaïne, la cocaéthylène, le lorazépam, le lormétazépam, la mémantine, la méthadone, l'oxycodone, le tétrazépam et la tianeptine, les R_s allaient de 0,2 à 0,6 $L.j^{-1}$ environ.

	Régime d'accumulation sur 30j	gamme linéarité (j)	modèle	R^2	k_u ($L.g^{-1}.j^{-1}$)	R_s ($L.j^{-1}$)
HCBZ	linéaire + inflexion	0-4	ND			
HBMZ	linéaire + inflexion	0-24	CF=2,4166 t	0,94	2,4166	0,4794 ± 0,0223
APZ	linéaire + inflexion	0-10	CF=0,9427 t	0,96	0,9427	0,1871 ± 0,0094
BZL	linéaire + inflexion	0-4	ND			
BMZ	linéaire	0-30	CF=0,685 t	0,92	0,6850	0,1360 ± 0,0061
BUP	linéaire + inflexion	0-4				
CBZ	linéaire	0-30	CF=3,0976 t	0,94	3,0976	0,6151 ± 0,0275
CIT	linéaire	0-30	CF= 0,7448 t	0,94	0,7448	0,1479 ± 0,0066
CNZ	linéaire	0-30	CF= 0,8480 t	0,94	0,8480	0,1684 ± 0,0075
COCE	linéaire + inflexion	0-12	CF= 1,0575 t	0,96	1,0575	0,2096 ± 0,0101
COC	linéaire	0-30	CF= 1,5729 t	0,92	1,5729	0,3123 ± 0,0140
COD	linéaire + inflexion	0-16	CF= 0,7208 t	0,93	0,7208	0,1430 ± 0,0065
DZP	linéaire + inflexion	0-12	CF= 0,8237 t	0,98	0,8237	0,1633 ± 0,0079
DNP	lag time	-				
EDDP	linéaire + inflexion	0-18	CF= 0,6374	0,88	0,6374	0,1267 ± 0,0055
FLX	lag time	-				
GBP	non linéaire					
GLT	linéaire + inflexion	0-8	CF= 0,8862 t	0,98	0,8862	0,1754 ± 0,0094
HIBU	non linéaire					
LRZ	linéaire	0-30	CF= 1,3673 t	0,94	1,3673	0,2715 ± 0,0121
LMZ	linéaire + inflexion	0-18	CF= 2,2261 t	0,95	2,2261	0,4423 ± 0,0192
MDA	non linéaire	-			0,0000	±
MDMA	linéaire + inflexion	0-12	CF= 0,6738 t	0,92	0,6738	0,1335 ± 0,0064
MMT	linéaire + inflexion	0-16	CF= 1,9806 t	0,94	1,9806	0,3929 ± 0,0179
MPB	linéaire + inflexion	0-16	CF= 0,3576 t	0,93	0,3576	0,0709 ± 0,0032
MTD	linéaire	0-30	CF= 1,8174 t	0,94	1,8174	0,3609 ± 0,0161
MSR	lag time	-				
MPH	linéaire + inflexion	0-12	CF= 0,9862 t	0,96	0,9862	0,1955 ± 0,0094
NCOD	linéaire + inflexion	0-12	CF= 0,4321 t	0,96	0,4321	0,0856 ± 0,0041
DVLF	linéaire + inflexion	0-16	CF= 0,7079 t	0,89	0,7079	0,1404 ± 0,0064
OXA	linéaire + inflexion	0-18	CF= 0,7888 t	0,94	0,7888	0,1567 ± 0,0068
OXY	linéaire + inflexion	0-16	CF= 1,1985 t	0,92	1,1985	0,2378 ± 0,0108
PRX	lag time	-				
PZP	linéaire + inflexion	0-4				
RVS	linéaire	0-30	CF= 0,8945 t	0,94	0,8945	0,1776 ± 0,0079
TTZ	linéaire + inflexion	0-12	CF= 1,709 t	0,96	1,7090	0,3387 ± 0,0163
TNP	linéaire	0-30	CF= 2,515 t	0,94	2,5150	0,4994 ± 0,0223
TMD	linéaire	0-30	CF= 0,4683 t	0,93	0,4683	0,0930 ± 0,0042
VLF	linéaire	0-30	CF= 0,9433 t	0,95	0,9433	0,1873 ± 0,0084
ZLP-6A	linéaire + inflexion	0-16	CF= 0,8359 t	0,96	0,8359	0,1658 ± 0,0076
ZLP-4A	linéaire + inflexion	0-16	CF= 0,393 t	0,98	0,3930	0,0780 ± 0,0036

TABLEAU 3.5 – Régimes d'accumulation et paramètres cinétiques pour 42 des 47 composés étudiés dans les POCIS

3.3.6. Les antidépresseurs

Le citalopram (ISRS), la venlafaxine et l'*O*-desméthylvenlafaxine présentent des taux d'échantillonnage respectifs de 0,147 ; 0,187 et 0,140 $L.j^{-1}$. Celui-ci est plus élevé pour la tianeptine (0,499 $L.j^{-1}$). En 2010 et en 2011, Li et *al.* ont publié des résultats d'étalonnages statiques en milieu fermé dans différentes conditions d'agitation et de température pour plusieurs résidus médicamenteux sur des POCIS *« pharmaceutiques »*. En milieu turbulent à 15°C, des R_s de 0,388 et de 0,287 $L.j^{-1}$ ont

été rapportés pour la venlafaxine dans des conditions similaires (Li et al., 2010a, 2011). Les auteurs ont également déterminé les taux d'échantillonnage pour l'*O*-desméthylvenlafaxine (0,158 $L.j^{-1}$) et pour le citalopram (0,735 et 0,445 $L.j^{-1}$) (Li et al., 2010a, 2011). Les résultats obtenus concernant la venlafaxine et son métabolite semblent donc cohérents alors que ceux-ci divergent pour le citalopram. Les auteurs ont par ailleurs observé des résultats intrinsèques significativement différents dans des conditions d'étalonnage pourtant similaires. Il est alors difficile de conclure dans des conditions où les protocoles d'étalonnage sont différents.

3.3.7. Benzodiazépines et molécules associées

Les taux d'échantillonnage ont été déterminés pour 11 benzodiazépines et les molécules associées. Ceux-ci sont comparables entre le bromazépam, l'oxazépam, le diazépam, l'acide zolpidem 6-carboxylique, le clonazépam et l'alprazolam qui présentent tous des R_s compris entre 0,136 et 0,187 $L.j^{-1}$. Les taux d'échantillonnage étaient légèrement supérieurs (0,271-0,479 $L.j^{-1}$) pour le lorazépam, le tétrazépam, le lormétazépam, et le 3-hydroxybromazépam. Des résultats du même ordre de grandeur ont été décrits récemment pour l'alprazolam (0,17-0,40 $L.j^{-1}$), le bromazépam (0,03-0,35 $L.j^{-1}$) et le diazépam (0,1-0,37 $L.j^{-1}$) (Belles, 2012) ainsi que pour l'oxazépam (0,226 $L.j^{-1}$) et le lorazépam (0,205 $L.j^{-1}$) (Morin et al., 2013).

3.3.8. Opiacés et les opioïdes

Les R_s ont également été calculés pour 7 molécules appartenant à la famille des opiacés et des opioïdes : 0,143 $L.j^{-1}$ pour la codéine, 0,195 $L.j^{-1}$ pour la morphine par exemple. A titre de comparaison, Mac Leod *et al.* ont déterminé un taux d'échantillonnage pour la codéine de 0,090 et de 0,329 $L.j^{-1}$ selon que le milieu environnant soit respectivement en régime calme ou turbulent (MacLeod et al., 2007b).

3.3.9. Anti-Alzheimer

Durant l'expérience, la galantamine, la rivastigmine et la mémantine ont toutes les trois montré une accumulation linéaire sur des périodes allant de 8 à 30 jours. Leurs taux échantillonnages étaient d'environ 0,17 $L.j^{-1}$ pour les deux premières et de 0,393 $L.j^{-1}$ pour la mémantine. Ces données sont les premières à avoir été déterminées pour cette classe thérapeutique.

3.3.10. Substances illicites

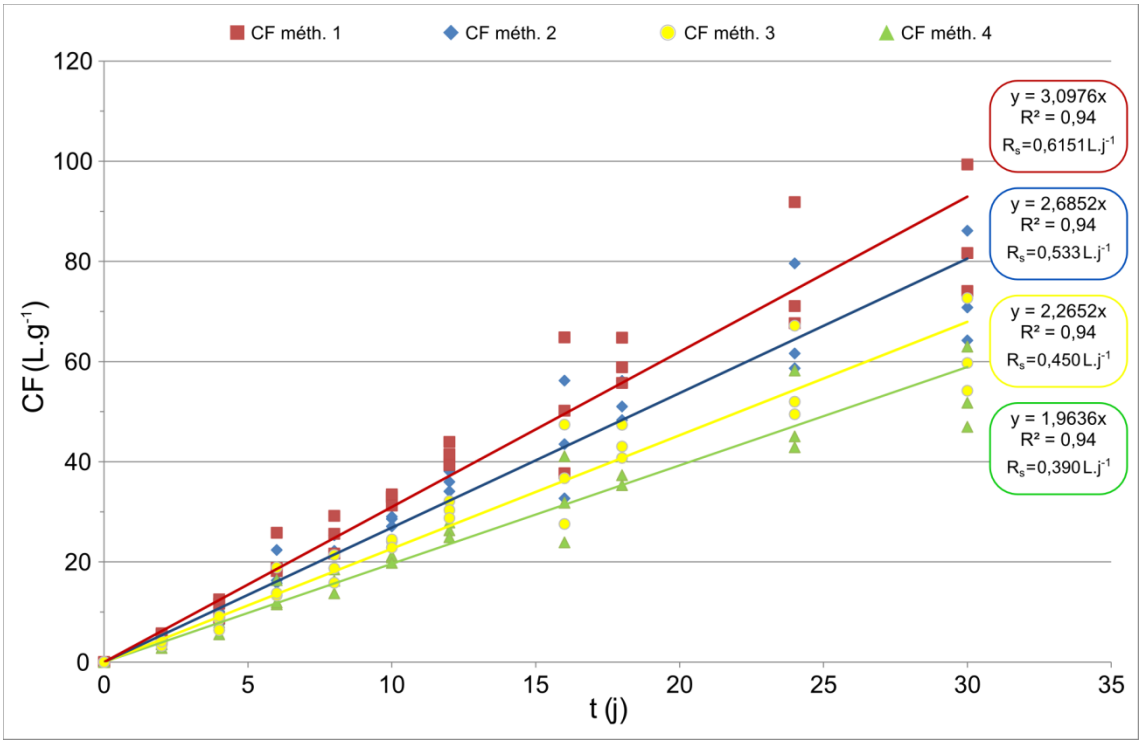
Les constantes cinétiques d'accumulation ont été déterminées pour 3 substances la cocaïne, la cocaéthylène et la MDMA à des valeurs respectives de 0,312 ; 0,210 et 0,133 $L.j^{-1}$. La calibration conduite en station d'épuration (eaux d'entrée) par Harman *et al.* a abouti à des taux légèrement inférieurs mais dont cocaïne > cocaéthylène > MDMA est préservée. A l'inverse Yargeau *et al.* ont déterminé des taux d'échantillonnage suivant une tendance inverse. Des R_s de 0,222 et de 0,130 $L.j^{-1}$ ont été respectivement calculés en laboratoire pour la MDMA et la cocaïne (Yargeau et al., 2013). Cependant il est encore une fois difficile de conclure étant donné la nature différente des protocoles d'échantillonnage adoptés.

3.3.11. Antiépileptiques

La carbamazépine présente le taux d'échantillonnage le plus élevé parmi les analytes étudiés : 0,615 $L.j^{-1}$. Plusieurs autres études ont été conduites dans le but de

déterminer le taux d'échantillonnage de la carbamazépine par des POCIS. Toutes rapportent des valeurs inférieures. Typiquement celles-ci sont comprises entre 0,2 et 0,4 $L.j^{-1}$ (Bartelt-Hunt et al., 2009; Belles, 2012; Li et al., 2010b, 2011; MacLeod et al., 2007b; Soulier, 2012; Togola, 2006; Zhang et al., 2008). Les valeurs calculées dans ce travail rapprochent néanmoins de certaines valeurs hautes de taux d'échantillonnage de 0,561 décrites à 25°C par Li *et al.* (Li et al., 2010b).

En plus des différences dans les protocoles d'étalonnage mis en place dans les laboratoires, la méthode de calcul utilisée est déterminante dans l'obtention du R_s. La FIGURE 3.13 illustre cette constatation avec l'exemple de la carbamazépine.



méth.1 : les concentrations dans les POCIS et dans l'eau ont été corrigées par les rendements
méth.2 : Seules les concentrations dans l'eau ont été corrigées par les rendements
méth. 3 : Seules les concentrations dans les POCIS ont été corrigées par les rendements
méth. 4 : aucune correction pas les rendements n'a été effectuée

FIGURE 3.13 – Influence de la méthode de calcul pour la détermination des taux d'échantillonnage : poids de la correction de la donnée

Les données brutes utilisées pour ces différentes méthodes de calcul sont identiques. La différence réside dans la correction éventuelle de ces résultats de mesure par les rendements d'extraction des contrôles positifs dont la valeur reflète les performances de la méthode au jour de sa mise en œuvre. Ainsi dans le cas de la carbamazépine, la prise en compte ou non de ces rendements entraîne une diminution du taux d'échantillonnage d'environ 40% passant de 0,615 $L.J^{-1}$ à 0,390 $L.j^{-1}$. Or cet aspect du calcul des taux d'échantillonnage est rarement discuté. Dans ce contexte, il serait judicieux d'introduire ces considérations comme un facteur d'influence dans l'établissement de nouvelles données d'étalonnage. En outre, cela légitime la nécessité de poursuivre les études, au sens métrologique, vers la détermination des incertitudes sur les constantes d'étalonnage. Cela permettrait notamment d'améliorer la comparabilité et la fiabilité des résultats.

La discussion des constantes cinétiques déterminées lors d'une expérience d'étalonnage en laboratoire par rapport aux valeurs rapportées dans la littérature s'avère être, en définitive, un exercice difficile. Celui-ci est bien souvent limité par la considération des conditions expérimentales qui, étant donné les effets qu'elles peuvent avoir, ne permettent pas d'établir d'éléments comparatifs rigoureux. En outre, la maitrise des étapes du processus de mesure et la méthode de calcul utilisée pour déterminer les constantes cinétiques peuvent avoir un impact important sur le résultat final. Par conséquent, il existe un besoin réel d'harmoniser les pratiques dans l'optique d'une utilisation à des fins quantitatives des outils intégratifs.

4. Démonstration de l'applicabilité des POCIS à l'étude de l'occurrence de psychotropes et d'autres médicaments de consommation courante

La démonstration de l'applicabilité des POCIS a été réalisée par une étude de cas au niveau de zones de captage d'eau potable en région parisienne. Ainsi, des POCIS ont été déployés durant 14 jours entre le 30 avril et le 14 mai 2013 dans des eaux de surfaces provenant de 2 grands cours d'eau : la Seine et la Marne. Les sites d'étude sont présentés en détails dans le chapitre 4 du manuscrit. Des prélèvements ponctuels d'eau ont été réalisés en parallèle le 30 avril ainsi que les 2, 6 et 14 mai.

Pour la période d'exposition choisie, l'étalonnage en laboratoire a permis de déterminer les taux d'échantillonnage pour 22 des composés psychotropes étudiés. La méthode multi-résidus décrite dans le chapitre 2 a cependant été appliquée aux extraits pour l'ensemble des 68 composés sélectionnés en phase 1 afin de réaliser un screening qualitatif du milieu.

4.1. Intérêt des POCIS pour la mise en évidence de la présence des molécules sélectionnées

Le TABLEAU 3.6 présente une comparaison des données de présence (détection et quantification) entre les mesures obtenues par échantillonnage ponctuel et échantillonnage passif par POCIS.

	Seine				**Marne**			
	ponctuel		**POCIS**		**ponctuel**		**POCIS**	
	nbr. ech. / 4		**nbr. ech. / 3**		**nbr. ech. / 4**		**nbr. ech. / 3**	
	détect.	**quanti.**	**détect.**	**quanti.**	**détect.**	**quanti.**	**détect.**	**quanti.**
Anti-épileptiques								
CBZ	4	4	3	3	4	4	3	3
GBP	4	4	0	0	4	4	0	0
HCBZ	4	4	3	3	4	4	3	3
OCBZ	3	3	3	3	4	4	3	3
Substances Illicites								
BZL	4	4	3	3	4	4	3	3
COC	4	0	3	0	4	0	3	3
COCE	0	0	0	0	0	0	3	3
mCPP	0	0	0	0	0	0	0	0
MDA	0	0	0	0	0	0	0	0
MDMA	0	0	0	0	0	0	3	3
MPD	0	0	1	0	0	0	1	0
Benzodiazépines								
HBMZ	0	0	0	0	0	0	3	3
ALP	0	0	0	0	0	0	0	0
BMZ	1	0	1	1	4	3	3	3
CLZ	0	0	0	0	0	0	0	0
CZP-NDZ	4	4	3	0	4	4	3	3
DZP	4	0	2	0	4	1	3	3
LMZ	4	2	2	0	4	2	3	0
LRZ	3	3	2	2	4	4	3	3
OXA	4	4	3	3	4	4	3	3
OXA-glu	0	0	0	0	0	0	0	0
PZP	4	4	3	3	4	4	3	3

TABLEAU 3.6 – Mise en évidence de la présence des composés recherchés selon la technique d'échantillonnage utilisée

	Seine				Marne			
	ponctuel		POCIS		ponctuel		POCIS	
	nbr. ech. / 4		nbr. ech. / 3		nbr. ech. / 4		nbr. ech. / 3	
	détect.	quanti.	détect.	quanti.	détect.	quanti.	détect.	quanti.
Benzodiazépines (suite)								
TTZ	4	4	3	3	4	4	3	3
ZLP	3	0	2	1	4	0	3	3
ZLP-4A	4	3	2	2	4	3	3	3
ZLP-6A	0	0	0	0	0	0	0	0
ZOP	0	0	0	0	0	0	3	1
ZOP-N-ox.	0	0	0	0	0	0	0	0
Anti-Alzheimer								
DNP	0	0	0	3	0	0	2	1
GLT	0	0	0	0	0	0	0	0
MMT	4	4	3	3	4	4	3	3
RVS	0	0	0	0	0	0	0	0
Antidépresseurs ISRS								
CIT	4	4	3	3	4	4	3	3
DCIT	4	2	3	3	4	3	3	3
FLX	2	0	0	0	2	0	0	0
MPRX	0	0	0	0	0	0	0	0
NFLX	0	0	0	0	0	0	0	0
PRX	0	0	0	0	0	0	0	0
SER	0	0	0	0	0	0	0	0
Opiacés et Opioïdes								
BUP	0	0	0	0	0	0	0	0
BUP-glu	0	0	0	0	0	0	0	0
COD	4	4	3	3	4	4	3	3
COD-glu	4	0	0	0	4	2	3	0
EDDP	4	4	3	3	4	4	3	3
M3G	0	0	0	0	0	0	0	0
M6G	0	0	0	0	0	0	0	0
MPH	1	1	2	2	3	3	3	3
MTD	4	4	3	3	4	4	3	3
NCOD	1	1	2	1	2	2	3	3
OXY	0	0	0	0	0	0	0	0
TMD	4	4	3	3	4	4	3	3
Autres antidépresseurs								
DVLF	4	4	3	3	4	4	3	3
DVLF-glu	0	0	0	0	0	0	0	0
MSR	1	0	0	0	1	1	3	2
TNP	0	0	0	0	0	0	0	0
VLF	4	4	3	3	4	4	3	3
Autre psycholeptique								
MPB	1	1	2	0	3	3	2	0
Autres médicaments de consommation courante								
CIBU	0	0	0	0	0	0	0	0
DCF	4	4	3	3	4	4	3	3
HIBU	1	0	0	0	3	2	0	0
IBU	4	4	3	3	4	4	3	3
IBU-glu	0	0	0	0	0	0	0	0
KTP	4	4	3	3	4	4	3	3
KTP-glu	0	0	0	0	0	0	0	0
NPX	4	4	3	3	4	4	3	3
NPX-glu	0	0	0	0	0	0	0	0
PAR	4	4	3	3	4	4	3	3
PAR-glu	0	0	0	0	0	0	0	0

TABLEAU 3.6 – Mise en évidence de la présence des composés recherchés selon la technique d'échantillonnage utilisée (suite)

Lors de cette campagne 40 composés ont été détectés au moins une fois dans les POCIS exposés. Parmi eux, 35 ont été quantifiés. Plus particulièrement, l'utilisation d'échantillonneurs intégratifs a permis de mettre en évidence la présence de 5 composés supplémentaires par rapport à l'approche conventionnelle. Ainsi la cocaéthylène, le 3-hydroxybromazépam et la MDMA ont été quantifiés au niveau du point d'échantillonnage situé en Marne. De plus, des traces de méphédrone et de zopiclone ont été détectées mais leur concentration dans la phase était inférieure à leur limite de quantification. D'autre part, comme les résultats de l'expérience de calibration pouvaient le laisser supposer, la gabapentine et l'hydroxyibuprofène, composés pour lesquels les facteurs de concentrations étaient très faibles, n'ont pas été détectés dans les POCIS. En revanche, ils l'ont été par échantillonnage conventionnel.

Ces résultats mettent en évidence l'aspect complémentaire de l'approche intégrative de l'échantillonnage pour la caractérisation de composés psychotropes dans l'environnement. Celle-ci est directement liée aux propriétés intrinsèques des POCIS qui permettent la concentration *in situ* des analytes recherchés. En revanche, ces outils s'avèrent inadaptés pour certains analytes dont l'adsorption sur la phase est limitée.

4.2. Concentrations mesurées dans les POCIS

Le TABLEAU 3.7 présente l'ensemble des concentrations mesurées dans les POCIS exprimées en $ng.g^{-1}$ de phase.

Au niveau du point d'échantillonnage situé en Seine, les concentrations moyennes dans la phase étaient inférieures à 10 $ng.g^{-1}$ pour 17 des 28 composés quantifiés dans au moins un POCIS. Les 11 autres analytes ont été mesurés à des concentrations moyennes comprises entre 27,72 $ng.g^{-1}$ pour la codéine jusqu'à 136,23 $ng.g^{-1}$ pour le tramadol. Sur le second site d'échantillonnage, les concentrations mesurées étaient plus élevées. En effet, 35 composés ont été quantifiés dans au moins un POCIS. Parmi eux, 16 ont été mesurés à des concentrations moyennes dans la phase inférieures à 10 $ng.g^{-1}$. Les 19 autres composés affichent des concentrations moyennes supérieures. Celles-ci étaient respectivement de 58,60 et de 232,66 $ng.g^{-1}$ pour la codéine et le tramadol. Les dispersions observées sont de l'ordre de 10% pour la majorité des composés et peuvent augmenter selon les niveaux de concentration et les molécules considérées. La dispersion maximale (81%) a par exemple été observée pour la cocaéthylène en Marne qui a été quantifiée à moins de 1 $ng.g^{-1}$ de phase.

	Seine					Marne				
	C_{POCIS1} ($ng.g^{-1}$)	C_{POCIS2} ($ng.g^{-1}$)	C_{POCIS3} ($ng.g^{-1}$)	$C_{POCIS\ moy}$ ($ng.g^{-1}$)	disp. (%)	C_{POCIS1} ($ng.g^{-1}$)	C_{POCIS2} ($ng.g^{-1}$)	C_{POCIS3} $ng.g^{-1}$)	$C_{POCIS\ moy}$ ($ng.g^{-1}$)	disp. (%)
BMZ	1,51	ND	ND	1,51	-	3,31	3,61	2,97	3,30	10
BZL	2,52	3,11	3,25	2,96	13	5,79	7,17	6,32	6,43	11
CBZ	60,11	72,08	67,66	66,62	9	110,23	130,38	126,87	122,49	9
CIT	6,27	9,01	7,48	7,59	18	19,29	19,63	17,81	18,91	5
COC	<LQ	<LQ	<LQ	-	-	1,93	3,37	1,91	2,40	35
COCE	ND	ND	ND	-	-	0,33	0,97	0,21	0,51	81
COD	26,37	32,55	30,24	29,72	10	54,99	62,38	58,45	58,60	6
COD-glu	ND	ND	ND	-	-	<LQ	<LQ	<LQ	-	-
CZP-NDZ	<LQ	<LQ	<LQ	-	-	4,05	6,56	4,69	5,10	26
DCF	61,60	72,92	76,22	70,24	11	104,17	127,67	124,12	118,65	11
DCIT	7,18	6,88	7,31	7,12	3	18,84	17,13	16,11	17,36	8
DNP	ND	ND	ND	-	-	<LQ	1,75	ND	1,75	-
DVLF	52,38	60,30	61,33	58,00	8	95,75	108,60	104,77	103,04	6
DZP	0,58	0,61	ND	0,60	3	0,79	2,96	1,27	1,67	68
EDDP	2,59	2,79	2,83	2,74	5	6,98	6,84	6,51	6,78	4
HBMZ	ND	ND	ND	-	-	8,03	9,66	10,72	9,47	14
HCBZ	87,81	100,30	104,23	97,44	9	182,28	225,97	213,13	207,13	11
IBU	41,47	43,22	51,59	45,43	12	102,01	116,72	124,55	114,42	10
KTP	4,95	6,28	8,60	6,61	28	15,33	21,85	18,00	18,39	18
LMZ	ND	<LQ	<LQ	-	-	<LQ	<LQ	<LQ	-	-
LRZ	4,25	5,36	ND	4,81	16	5,89	9,67	5,15	6,90	35
MDMA	ND	ND	ND	-	-	1,48	3,30	1,40	2,06	52
MMT	4,05	4,78	5,13	4,65	12	9,10	10,59	9,33	9,67	8
MPB	ND	<LQ	<LQ	-	-	<LQ	<LQ	ND	-	-
MPD	ND	<LQ	ND	-	-	ND	<LQ	ND	-	-
MPH	1,79	1,57	ND	1,68	9	4,06	5,14	4,41	4,53	12
MSR	ND	ND	ND	-	-	<LQ	3,25	2,68	2,96	13
MTD	2,68	3,06	2,94	2,89	7	5,16	7,03	5,64	5,94	16
NCOD	7,67	<LQ	ND	7,67	-	14,68	15,18	16,56	15,47	6
NPX	29,38	41,70	42,52	37,87	19	77,11	84,35	84,97	82,14	5
OCBZ	4,12	4,90	4,27	4,43	9	30,29	40,54	29,26	33,36	19
OXA	93,72	113,83	110,25	105,93	10	120,61	137,60	136,69	131,63	7
PAR	80,28	54,60	72,19	69,02	19	104,40	175,49	200,67	160,19	31
PZP	0,87	1,11	1,12	1,03	13	1,96	3,67	1,58	2,40	46
TMD	125,72	138,25	144,71	136,23	7	214,96	239,18	243,82	232,66	7
TTZ	1,17	2,35	2,63	2,05	38	5,36	6,93	4,15	5,48	25
VLF	34,68	38,66	37,95	37,10	6	61,71	75,14	72,41	69,75	10
ZLP	<LQ	0,58	ND	0,58	-	0,61	2,31	0,46	1,13	91
ZLP-4A	8,39	10,02	ND	9,21	13	19,85	15,87	21,91	19,21	16
ZOP	ND	ND	ND	-	-	<LQ	<LQ	<LQ	-	-

TABLEAU 3.7 – Concentrations mesurées dans les POCIS ($ng.g^{-1}$ de phase) déployées pendant 14 jours dans les eaux de la Seine et de la Marne.

4.3. Concentrations moyennes en psychotropes estimées par l'approche POCIS

Les résultats de l'expérience de calibration ont mis en évidence des cinétiques d'accumulation linéaires pour certains composés pendant une période d'au moins 14 jours (voir partie 3.3.5). Pour ces analytes, le taux d'échantillonnage permet de calculer la concentration moyennée dans le temps dans le milieu. Le TABLEAU 3.8 présente les concentrations moyennées en $ng.L^{-1}$ durant les 14 jours de déploiement.

	Seine					Marne				
	C_{TWA1} ($ng.L^{-1}$)	C_{TWA2} ($ng.L^{-1}$)	C_{TWA3} ($ng.L^{-1}$)	$C_{TWA\ moy}$ ($ng.L^{-1}$)	disp. (%)	C_{TWA1} ($ng.L^{-1}$)	C_{TWA2} ($ng.L^{-1}$)	C_{TWA3} ($ng.L^{-1}$)	$C_{TWA\ moy}$ ($ng.L^{-1}$)	disp. (%)
BZL*	0,28	0,35	0,38	0,34	15	0,64	0,82	0,73	0,73	12
BMZ	0,17	ND	ND	0,17	-	0,36	0,41	0,34	0,37	9
CBZ	1,47	1,79	1,71	1,66	10	2,67	3,24	3,18	3,03	10
CIT	0,64	0,93	0,79	0,78	18	1,94	2,03	1,86	1,94	4
COC	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	-	0,09	0,16	0,09	0,12	35
COD	2,77	3,47	3,29	3,18	11	5,72	6,66	6,31	6,23	8
DCF*	9,27	11,11	11,86	10,74	12	15,49	19,48	19,15	18,04	12
DCIT*	0,30	0,30	0,32	0,31	4	0,79	0,74	0,70	0,74	6
DZP*	0,05	0,06	ND	0,06	4	0,07	0,28	0,12	0,16	69
EDDP	0,31	0,34	0,35	0,33	6	0,82	0,82	0,79	0,81	2
HBMZ	ND	ND	ND	-	-	0,25	0,31	0,35	0,30	16
IBU*	3,90	4,11	5,02	4,34	14	9,48	11,13	12,01	10,87	12
KTP*	0,46	0,60	0,84	0,63	30	1,42	2,08	1,74	1,75	19
LRZ	0,24	0,30	ND	0,27	17	0,32	0,54	0,29	0,39	35
MDMA*	ND	ND	ND	-	-	0,10	0,23	0,10	0,14	53
MMT	0,15	0,19	0,20	0,18	13	0,34	0,41	0,37	0,37	9
MPH*	0,10	0,09	ND	0,10	8	0,23	0,30	0,26	0,26	13
MTD	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	-	0,21	0,30	0,24	0,25	17
NPX*	2,46	3,53	3,68	3,22	21	6,37	7,15	7,28	6,94	7
DVLF	5,61	6,54	6,80	6,32	10	10,14	11,80	11,51	11,15	8
OXA	8,99	11,06	10,95	10,33	11	11,44	13,40	13,45	12,77	9
PAR*	60,38	41,58	56,16	52,71	19	77,63	133,92	154,79	122,11	33
TMD	20,33	22,65	24,21	22,40	9	34,38	39,25	40,45	38,03	8
VLF	2,78	3,14	3,15	3,03	7	4,90	6,12	5,96	5,66	12
ZLP-4A	1,62	1,96	ND	1,79	1	3,79	3,11	4,34	3,74	16

*concentrations moyennes calculées avec R^s rapportés dans la littérature : BZL : R_s=0,134 $L.j^{-1}$ (Yargeau et al., 2013) ; DCF : R_s =0,1 $L.j^{-1}$ (Belles, 2012) ; DCIT : R_s=0,355 $L.j^{-1}$ (Li et al., 2010a) ; DZP : R_s=0,16 $L.j^{-1}$ (Belles et al., 2014) ; IBU : R_s=0,16 $L.j^{-1}$ (Belles et al., 2014) ; KTP : R_s=0,16 $L.j^{-1}$ (Belles et al., 2014) ; MDMA : R_s=0,222 $L.j^{-1}$ (Yargeau et al., 2013) ; MPH : R_s=0,261 $L.j^{-1}$ (Yargeau et al., 2013) ; NPX : R_s=0,18 $L.j^{-1}$ (Belles et al., 2014) ; PAR : R_s=0,02 $L.j^{-1}$ (Togola, 2006)

TABLEAU 3.8 – Concentrations moyennées sur une période de 14 jours dans les eaux de surface échantillonnées par les POCIS

Les concentrations moyennées dans le temps obtenues grâce à la mise en œuvre des POCIS ont été comparées, site par site, aux concentrations moyennes mesurées sur 3 échantillons prélevés ponctuellement pendant la durée d'exposition. La FIGURE 3.14 et la FIGURE 3.15 illustrent graphiquement les résultats obtenus avec les deux techniques d'échantillonnage.

A l'exception du tramadol et de l'acide zolpidem 4-phényl carboxylique, les concentrations moyennes mesurées par échantillonnage ponctuel sont légèrement supérieures à celles mesurées par échantillonnage intégratif. La différence entre les résultats obtenus demeure néanmoins faible.

En Seine, les écarts relatifs constatés vont de -36% pour le citalopram jusqu'à +31% pour le tramadol. Seulement 5 composés présentent des différences plus marquées : l'acide zolpidem 4-phényl carboxylique, la carbamazépine, l'EDDP, le lorazépam et la mémantine. Pour ces composés, des rapports de 2 à 4 peuvent être observés entre les concentrations mesurées par approche conventionnelle et celle mesurées avec les POCIS.

En Marne des résultats similaires ont été observés à des niveaux de concentration légèrement supérieurs. La différence entre les deux approches est

également faible pour la majorité des molécules traitées. Celle-ci est même inférieure à 10% pour l'oxazépam, la venlafaxine, l'O-desméthylvenlafaxine et la codéine. Les écarts relatifs sont compris entre -33% pour la mémantine et 39% pour le citalopram. Les plus grandes différences entre les concentrations mesurées selon les deux techniques d'échantillonnage ont été constatées pour l'acide zolpidem 4-phényl carboxylique, le tramadol, la carbamazépine, le lorazépam, le bromazépam et la méthadone avec des facteurs allant de 2 à 4 environ.

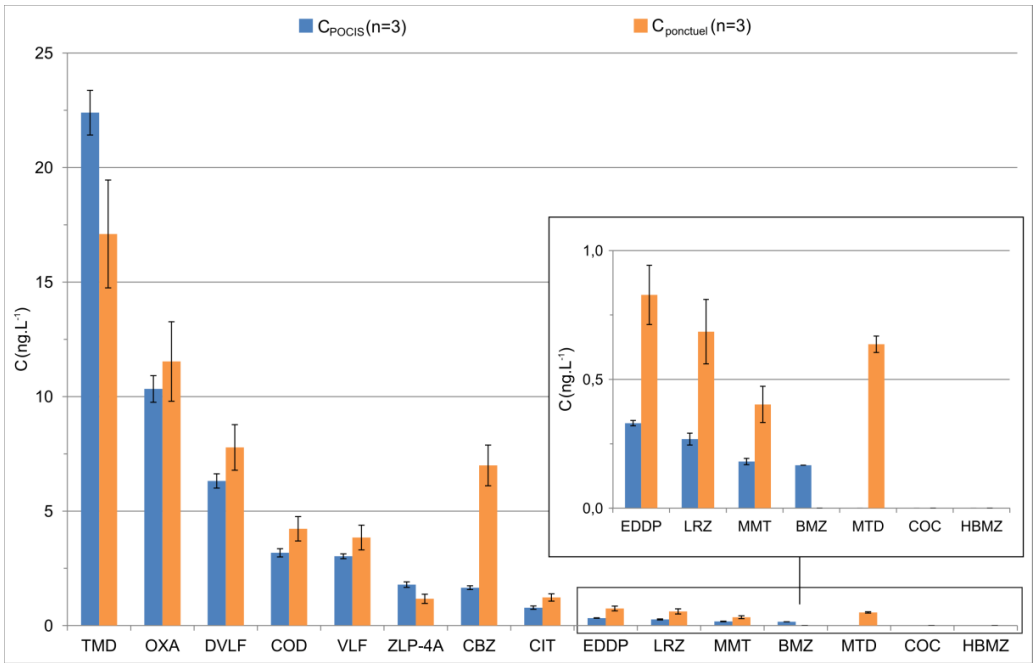


FIGURE 3.14 – Comparaison des concentrations mesurées (ng.L^{-1}) en Seine par échantillonnage ponctuel et échantillonnage passif

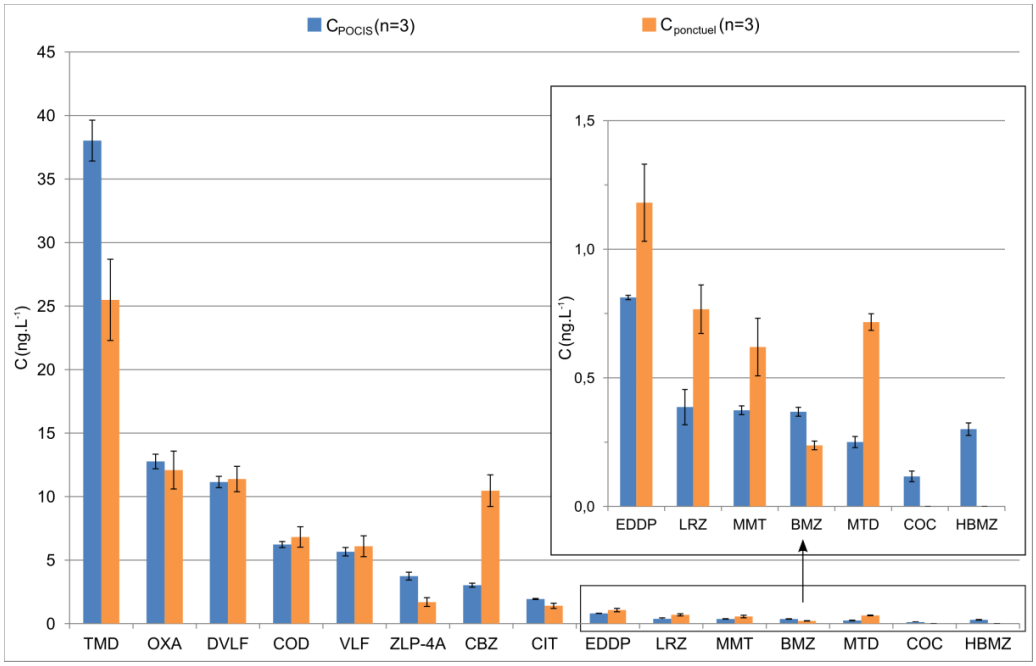
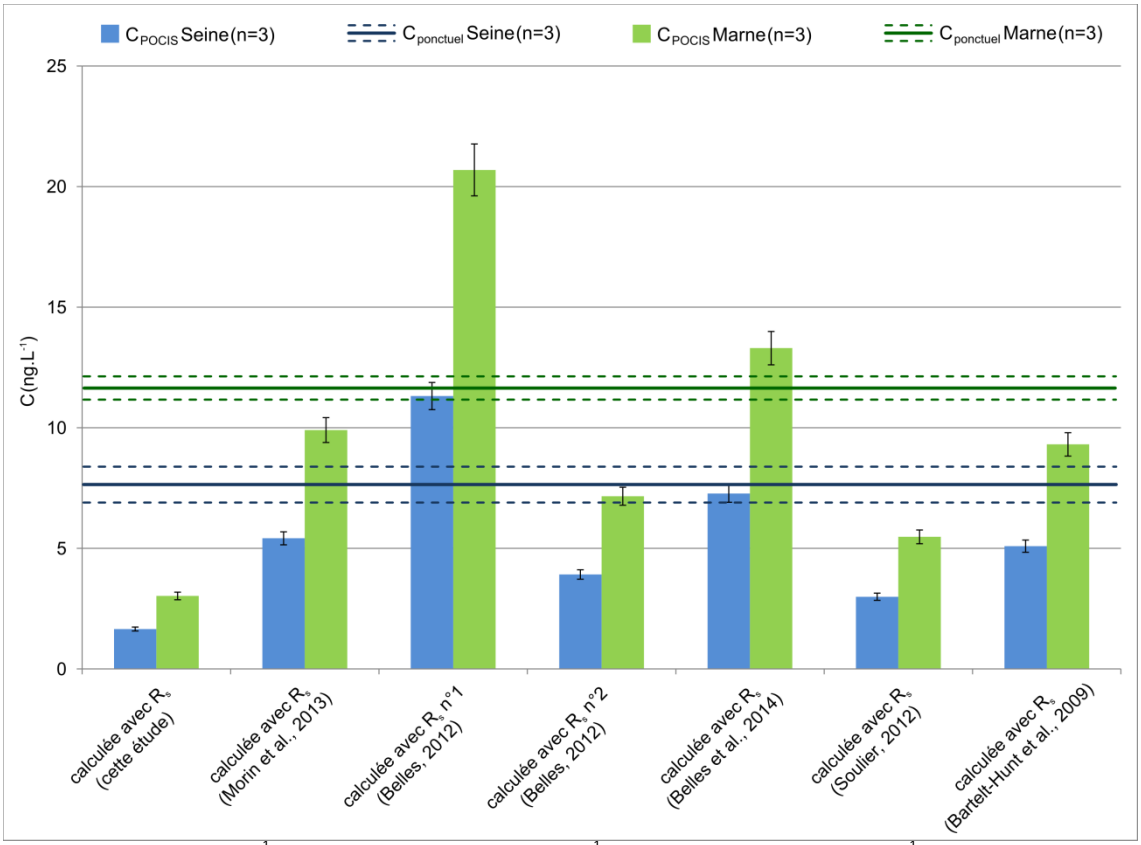


FIGURE 3.15 – Comparaison des concentrations mesurées (ng.L^{-1}) en Marne par échantillonnage ponctuel et échantillonnage passif

Ainsi les ordres de grandeurs des concentrations mesurées par les POCIS étaient comparables à ceux des concentrations obtenues en par échantillonnage ponctuel. Les écarts observés sont en accord avec ceux rapportés dans d'autres études (Li et al., 2010a; Soulier, 2012). Les résultats obtenus pour l'ensemble des composés sont donc satisfaisants si l'on met en perspective les niveaux de concentrations considérés (souvent inférieurs à 1 ng.L^{-1}) ainsi que la portée semi-quantitative de l'outil. De plus, l'accumulation *in situ* de la cocaïne et du 3-hydroxybromazépam sur les échantillonneurs a permis de les quantifier en Marne.

Parmi les composés quantifiés par approche intégrative, la carbamazépine présente les écarts les plus importants. Aussi sa concentration moyennée dans le temps a été calculée en utilisant d'autres taux d'échantillonnage rapportés dans la bibliographie (mais compatibles avec les conditions de déploiement de cette étude). Comme le montre la FIGURE 3.16, les concentrations calculées en utilisant le R_s déterminé par Belles et *al.* à 0,14 L.j^{-1} (Belles et al., 2014) sont proches de celles mesurées par approche conventionnelle.



R_s (cette étude) = 0,615 L.j^{-1}; R_s (Morin et al. 2013) = 0,188 L.j^{-1}; R_s n°1 (Belles, 2012) = 0,09 L.j^{-1}; R_s n°2 (Belles, 2012) = 0,26 L.j^{-1}; R_s (Belles et al., 2014) = 0,14 L.j^{-1}; R_s (Soulier, 2012) = 0,34 L.j^{-1}; R_s (Bartelt-Hunt et al., 2009) = 0,2 L.j^{-1}

FIGURE 3.16 – Comparaison des concentrations obtenues calculées avec différents taux d'échantillonnage rapportés dans la littérature

5. Bilan du développement d'une approche complémentaire par échantillonnage intégratif

Les développements menés ont permis de caractériser les taux d'échantillonnage pour la majorité des composés psychotropes étudiés. Les premières données concernant les constantes d'accumulation ont notamment été définie pour 6 molécules : la tianeptine, le 3-hydroxybromazépam, l'acide zolpidem 4-phényl carboxylique, l'acide zolpidem 6-carboxylique, la mémantine et la rivastigmine.

La démarche développée au cours de ce chapitre a démontré l'intérêt et l'applicabilité de l'utilisation de POCIS dans le cadre de monitoring environnementaux visant à caractériser certaines des molécules étudiées. Cette méthode complémentaire a montré des résultats encourageants y compris sur la capacité de ces approches à établir des informations semi-quantitatives d'occurrence. En effet, en l'état actuel des connaissances quant aux mécanismes d'accumulation et en l'absence d'approche robuste d'utilisation des POCIS (y compris avec des PRC), ces outils permettent d'*estimer* et non de *calculer* la concentration dans le milieu (Harman et al., 2011b).

En outre, les résultats obtenus au travers de ces développements confirment l'hétérogénéité des taux d'échantillonnage publiés pour certaines des molécules étudiées. Les raisons de cette disparité semblent être principalement de nature méthodologique et analytique (maîtrise de la quantification) et soulignent un besoin d'harmonisation. Cela inclut notamment les expériences de calibration et l'adoption de méthodes de calcul communes prenant en compte les limites de l'approche. Le besoin de mieux caractériser les mesures et les constantes d'étalonnage d'un point de vue métrologique avec notamment l'estimation des incertitudes est évident. De plus, la mise en place des outils du contrôle et de l'assurance qualité QA/QC (matériaux de référence, comparaisons inter-laboratoires…) apparaît comme indispensable pour permettre leur reconnaissance et leur transfert vers les opérationnels en charge de la surveillance des milieux (Vrana et al., 2009).

Chapitre 4

Etude de l'occurrence des psychotropes dans les systèmes aquatiques français dans le but d'établir une liste restreinte de molécules d'intérêt

1. Caractérisation des effluents de stations d'épuration 204
1.1. Description des sites et du déroulement de l'étude 204
1.2. Résultats 206

2. Etude de la contamination d'un petit cours d'eau : cas de la Jalle d'Eysines 213
2.1. Description du site et du déroulement de l'étude 213
2.2. Résultats 214

3. Etude de la contamination de points de captage en eaux de surface provenant de 2 grands cours d'eau 218
3.1. Description des sites et du déroulement de l'étude 218
3.2. Résultats 219

4. Etude de la contamination d'un grand cours d'eau : cas de la Seine au niveau de la ville de Paris 228
4.1. Description des sites et du déroulement de l'étude 228
4.2. Résultats 229

5. Bilan de la mise en œuvre de la méthode multi-résidus dans l'environnement 237
5.1. Caractérisation dans les effluents de stations d'épuration 237
5.2. Caractérisation dans les eaux de surface 237

6. Sélection d'une liste de molécules pour le développement d'une méthode de référence. 238
6.1. Démarche de hiérarchisation 238
6.2. Calcul du score d'occurrence 239
6.3. Score rejets de station d'épuration 240
6.4. Eaux de surface 241
6.5. Classement en fonction de l'occurrence dans les différents types d'eaux analysées 243
6.6. Facteurs de pondération 246
6.7. Sélection d'une liste restreinte de composés pour le développement d'une méthode de référence 248

Bibliographie 305

Annexes 335

ANNEXE 4.1 – Etude de la contamination d'effluents de STEP 350
ANNEXE 4.2 – Etude de la contamination de la Jalle d'Eysines 362
ANNEXE 4.4 – Concentrations mesurées dans les eaux de surface en Seine au niveau de la ville de Paris 368
ANNEXE 4.5 – Débits de la Seine et de la Marne au cours des campagnes de mesure 380
ANNEXE 4.6 – Niveaux de contamination relatifs en paracétamol et en diclofénac par rapport à une sélection représentative de molécules psychotropes étudiées 381

Ce chapitre est consacré au second objectif de ces travaux : l'utilisation de la méthode multi-résidus développée pour des analyses environnementales. Celles-ci comprennent à la fois l'analyse d'effluents de stations d'épuration et d'eaux de surface dans le but de caractériser la présence des composés recherchés. Les données obtenues lors des différentes campagnes de mesure ont par la suite été utilisées afin de sélectionner, en fonction de leur pertinence environnementale, une liste restreinte de composés psychotropes pour le développement d'une méthode de référence.

Au cours de ce chapitre, les discussions sur les niveaux de contamination seront axées, lorsque cela est possible, sur les valeurs médianes. En effet cet indicateur a été jugé plus représentatif d'un ensemble de données dans le sens où, à la différence de la moyenne, la médiane n'est pas directement modifiée par les valeurs extrémes.

Afin d'alléger les écritures dans la présentation des résultats, des acronymes ont été associés à chacun des analytes étudiés. Ils sont rappelés dans la liste suivante en fonction de leur classe chimique ou thérapeutique :

Anti-Alzheimer :
DNP : donépézil
GLT : galantamine
MMT : mémantine
RVS : rivastigmine

Antidépresseurs ISRS :
CIT : citalopram
DCIT : desméthylcitalopram
FLX : fluoxétine
NFLX : norfluoxétine
PRX : paroxétine
MPRX : (-)-trans-4-[4-(4'-fluorophenyl)-3-piperidinylmethoxy]-2-methoxyphénol
SER : sertraline

Antidépresseurs (autres) :
MSR : miansérine
DVLF : *O*-desméthylvenlafaxine
DVLF-glu : *O*-desméthylvenlafaxine glucuronide
TNP : tianeptine
VLF : venlafaxine

Antiépileptiques :
CBZ : carbamazépine
GBP : gabapentine
HCBZ : 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine
OCBZ : oxcarbazépine

Benzodiazépines (et molécules associées) :
ALP : alprazolam
BMZ : bromazépam
CLZ : clonazépam
CZP : clorazépate
DZP : diazépam
HBMZ : 3-hydroxybromazépam

LMZ : lormétazépam
LRZ : lorazépam
NDZ : nordazépam
OXA : oxazépam
OXA : oxazépam glucuronide
PZP : prazépam
TTZ : tétrazépam
ZLP : zolpidem
ZLP-4A : acide zolpidem 4-phényl-carboxylique
ZLP-6A : acide zolpidem 6-carboxylique
ZOP : zopiclone
ZOP-N-ox. : zopiclone-N-oxyde

Opiacés et Opioïdes
BUP : buprénorphine
BUP-glu : buprénorphine glucuronide
COD : codéine
COD-glu : codéine-6-β-glucuronide
EDDP : 2-éthylidine-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrolidine
M3G : morphine-3-β-glucuronide
M6G : morphine-6-β-glucuronide
MPH : morphine
MTD : méthadone
NCOD : norcodéine
OXY : oxycodone
TMD : tramadol

Substances illicites :
BZL : benzoylecgonine
COC : cocaïne
COCE : cocaéthylène
mCPP : méta-chlorophénylpiperazine
MDA : 3,4-méthylènedioxyamphétamine
MDMA : 3,4-méthylène-dioxy-N-méthylamphétamine
MPD : méphédrone

Psycholeptique (autre) :
MPB : méprobamate

Autres médicaments de consommation courante :
CIBU : carboxyibuprofène
DCF : diclofénac
HIBU : 2-hydroxyibuprofène
IBU : ibuprofène
IBU-glu : ibuprofène glucuronide
KTP : kétoprofène
KTP-glu : kétoprofène glucuronide
NPX : naproxène
NPX-glu : naproxène glucuronide
PAR : paracétamol
PAR-glu : paracétamol glucuronide

1. Caractérisation des effluents de stations d'épuration

Les effluents de stations d'épuration constituent la source d'entrée principale des résidus médicamenteux dans l'environnement (Kümmerer, 2008). La caractérisation des composés sélectionnés a donc été réalisée sur ce type d'échantillons afin d'identifier, en premier lieu, leur occurrence à l'origine.

1.1. Description des sites et du déroulement de l'étude

1.1.1. Présentation des stations d'épuration choisies

Les effluents de 6 stations d'épuration (STEP) ont été analysés. La FIGURE 4.1 présente la localisation des STEP étudiées. Celles-ci se situent en région Aquitaine et Normandie.

FIGURE 4.1 – Localisation des différentes stations d'épuration étudiées

Les caractéristiques des stations d'épuration choisies sont présentées dans le TABLEAU 4.1.

	origine des eaux usées	capacité (éq. hab)	débit (m^3/j)	filières de traitement
STEP 1	urbaine	400 000	100 000	décantation physique + biofiltres
STEP 2	urbaine	300 000	135 000	décantation physique + boues activées AP
STEP 3	périurbaine	10 000	3 200	boues activées AP
STEP 4	urbaine	50 000	14 000	décantation physico-chimique + biofiltres + DP
STEP 5	urbaine	500 000	85 000	boues activées AP + DN + DP
STEP 6	urbaine	118 000	15 800	boues activées AP + DN + DP

éq. hab : équivalent habitant ; AP : aération prolongée ; DN : dénitrification ; DP : déphosphatation

TABLEAU 4.1 – Caractéristiques des stations d'épuration sélectionnées

Le choix de ces sites d'étude a été effectué dans une volonté de représentativité géographique et démographique du territoire français. Ainsi les STEP 1 et 2 se situent dans l'agglomération Bordelaise. La STEP 5 se trouve près de Rouen, en Seine maritime. Tout comme les STEP 1 et 2, elle traite des eaux usées issues d'une zone urbaine fortement peuplée. A quelques kilomètres de là, la STEP 6 collecte les eaux usées de 16 communes environnantes au sein d'une zone urbaine moins importante. Enfin les STEP 3 et 4 se situent à proximité de Périgueux. Les eaux usées traitées dans la STEP 3 sont d'origine périurbaine et celles de la STEP 4 proviennent d'une zone urbaine moyennement peuplée. De plus, ces stations sont représentatives des principales filières de traitement utilisées en France.

1.1.2. Présentation de la stratégie d'échantillonnage

L'ensemble des prélèvements a été réalisé à l'aide de préleveurs automatiques afin d'obtenir un échantillon moyenné sur 24 h proportionnellement au débit. Les échantillons ont ensuite été transportés à +4°C jusqu'au laboratoire avant d'être filtrés (0,7µm) puis conservés à -20°C jusqu'au jour de leur extraction.

Afin de tenir compte de la variabilité saisonnière, un suivi annuel des effluents des STEP 1 et 2 a été conduit durant l'année 2012. De plus, dans le but d'intégrer une possible variabilité micro-temporelle, les prélèvements ont été réalisés durant 3 journées consécutives au cours des mois de mars, juin, septembre et décembre. Un total de 27 échantillons a été analysé pour la STEP 1 (n=15) et la STEP 2 (n=12).

3 prélèvements ont été réalisés dans les effluents des STEP 3. Le premier a été effectué durant le mois de mars 2011, le second au mois de mars 2012 et le troisième en avril 2012.

Un total de 5 échantillons d'effluents de la STEP 4 a été analysé. Trois d'entre eux ont été prélevés au mois de mai, juillet et septembre 2011 et les deux derniers durant les mois de mars et avril 2012.

Enfin, un seul échantillon a été prélevé en novembre 2011 au niveau de la STEP 5 et les effluents de la STEP 6 ont été échantillonnés à 3 reprises en mai, août et novembre 2011.

1.2. Résultats

L'ensemble des résultats détaillés selon les fréquences de quantification et les concentrations minimales, maximales, moyennes et médianes pour l'ensemble des composés dans les 39 échantillons d'effluents analysés sont fournis en ANNEXE 4.1. Plus de trois quarts des composés recherchés (53 sur 68) ont été quantifiés au moins une fois dans les échantillons analysés.

La FIGURE 4.2 présente graphiquement l'occurrence de 27 composés appartenant à 5 classes différentes : les anti-Alzheimer, les antidépresseurs ISRS, les autres antidépresseurs, les opiacés et les opioïdes ainsi que les substances illicites.

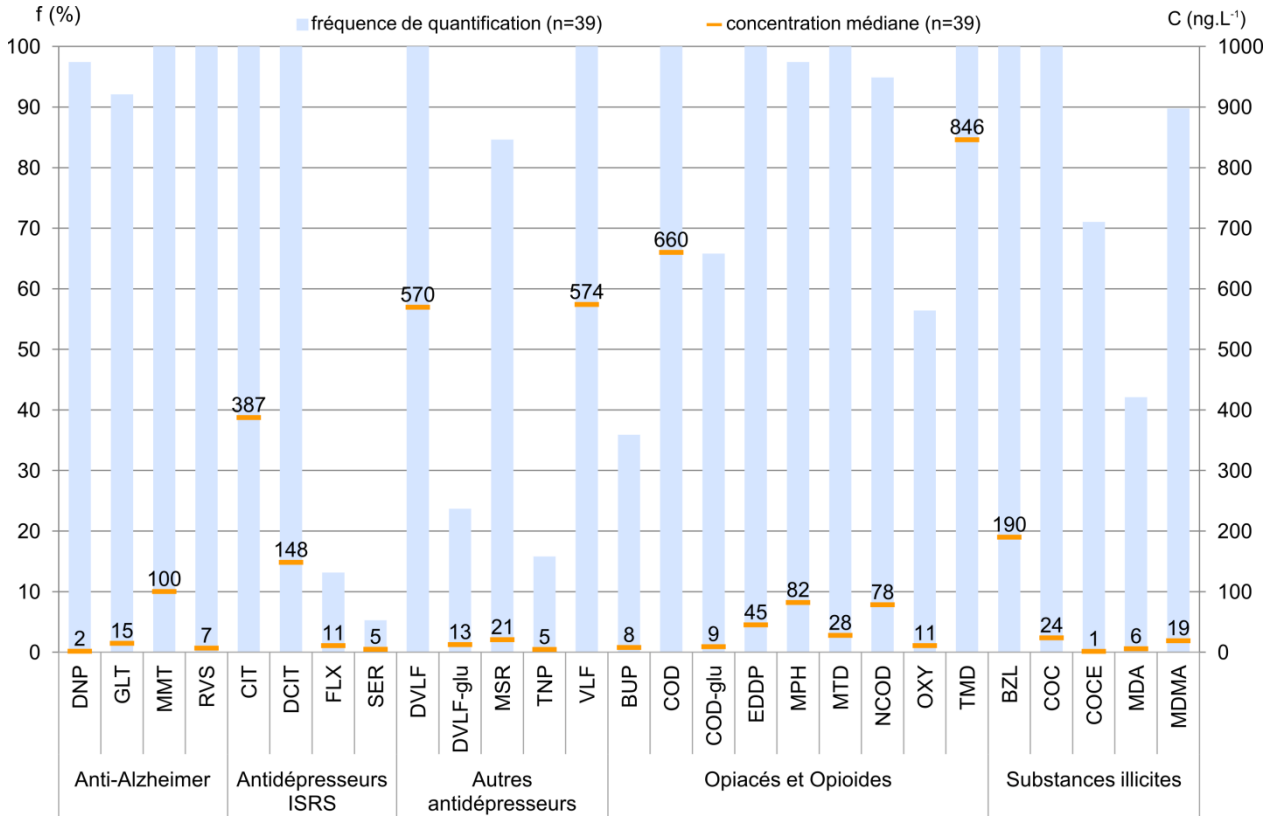


FIGURE 4.2 – Fréquences de quantification (%) et concentrations médianes (ng.L^{-1}) en anti-Alzheimer, antidépresseurs, opiacés et opioïdes ainsi qu'en substances illicites dans les effluents de STEP

1.2.1. Les anti-Alzheimer

L'ensemble des 4 molécules anti-Alzheimer a été quantifié avec des fréquences comprises entre 92% et 100%. La mémantine se distingue nettement comme le composé apportant la contribution majoritaire dans l'empreinte totale de cette classe de médicament. Son niveau de contamination médian est de 100 ng.L^{-1}. Pour les 3 autres molécules, les concentrations médianes varient entre 2 et 15 ng.L^{-1}. Très peu de données sont disponibles pour les anti-Alzheimer. La présence de mémantine dans les effluents de station d'épuration a toutefois été rapportée à deux reprises. En Suède, Grabic *et al.* l'ont mesuré entre 1 et 25 ng.L^{-1} dans 6 effluents différents (Grabic et al., 2012). Enfin, dans une étude à l'échelle européenne, des échantillons d'effluents

provenant de 14 pays de l'union européenne ont été analysés. 88% d'entre eux contenaient de la mémantine à des concentrations allant du ng à la dizaine de $ng.L^{-1}$ avec une concentration maximale de l'ordre du $\mu g.L^{-1}$ (Loos et al., 2013).

1.2.2. Les antidépresseurs ISRS

Le citalopram et son métabolite, le desmétylcitalopram, sont les antidépresseurs de type ISRS les plus fréquemment quantifiés. Ils ont été mesurés dans la totalité des échantillons et leurs concentrations médianes étaient respectivement de 387 et 148 $ng.L^{-1}$. Ces niveaux de concentration sont plus élevés que ceux constatés par Loos *et al.* qui ont mesuré le citalopram à travers l'Europe à un niveau médian de 33 $ng.L^{-1}$ avec une valeur maximale à 187 $ng.L^{-1}$ (Loos et al., 2013). Les concentrations observées ici demeurent toutefois cohérentes. Des concentrations moyennes de l'ordre de 100 à 200 $ng.L^{-1}$ ont récemment été mesurées dans des effluents de stations d'épuration au Canada (Lajeunesse et al., 2012) aux Etats-Unis (Writer et al., 2013). De plus, Writer *et al.* ont constaté un ratio parent/métabolite de 200% environ, ce qui est en accord avec les résultats expérimentaux de ces travaux.

La fluoxétine et la sertraline ont, quant à elles, été quantifiées sporadiquement dans 13 et 5% des échantillons. La norfluoxétine, la paroxétine et son métabolite principal n'ont jamais été détectés. Cela pourrait s'expliquer par des limites de quantification plus élevées pour ces composés. Ces résultats sont toutefois cohérents par rapport aux concentrations rapportées dans la bibliographie. Des fréquences de quantification de 58% pour la fluoxétine et de 37% pour la norfluoxétine pour des concentrations médianes respectives de 16 et 6 $ng.L^{-1}$ ont été récemment observées au Royaume-Uni pour l'analyse de plus de 80 effluents de stations d'épuration (Baker et al., 2013). D'autres études conduites en Europe et au Canada révèlent des résultats comparables avec de faibles fréquences de quantification ou de détection associées à des concentrations de l'ordre de quelques $ng.L^{-1}$ en moyenne (Grabic et al., 2012; Gros et al., 2012; Lajeunesse et al., 2012; Loos et al., 2013; Repice et al., 2013).

1.2.3. Les autres antidépresseurs

La venlafaxine et la desméthylvenlafaxine se distinguent parmi les autres antidépresseurs étudiés comme les plus fréquents et ont été mesurés dans l'ensemble des échantillons. La miansérine a également été fréquemment quantifiée (>80%). La tianeptine et le composés glucuronidé de la desméthylvenlafaxine présentent, quant à eux, de faibles fréquences de quantification (<30%). Du point de vue quantitatif, la venlafaxine et son métabolite sont les composés les plus abondants de cette classe de molécules : leurs niveaux de contamination médians sont voisins de 570 $ng.L^{-1}$. Ce niveau est nettement inférieur pour la miansérine (20 $ng.L^{-1}$) ainsi que pour la tianeptine et la desméthylvenlafaxine glucoronide (5 et 13 $ng.L^{-1}$ respectivement). Des résultats allant en moyenne de 100 à 370 $ng.L^{-1}$ ont été observés sur la venlafaxine dans d'autres pays européens (Baker et al., 2013; Grabic et al., 2012; Gros et al., 2012; Loos et al., 2013). La bibliographie fait également état de niveaux moyens plus importants : des contaminations de l'ordre de 1 à 2,5 $\mu g.L^{-1}$ pour la venlafaxine et son métabolite ont été rapportées (Lajeunesse et al., 2012; Writer et al., 2013).

1.2.4. Les opiacés et les opioïdes

A l'exception des composés glucuronidés de la morphine et de la buprénorphine, tous les autres composés appartenant à la famille des opiacés et des opioïdes ont été quantifiés dans les échantillons analysés. La codéine, la méthadone,

l'EDDP et le tramadol ont été systématiquement quantifiés suivis par la morphine et la norcodéine dont la présence a pu être mesurée dans plus de 9 effluents sur 10. La codéine-6-β-glucuronide et l'oxycodone étaient quantifiables dans plus d'un échantillon sur deux et la buprénorphine dans un peu plus d'un tiers des cas. D'un point de vue quantitatif, avec des concentrations médianes respectives de 660 et de 846 ng.L^{-1}, la codéine et le tramadol sont les molécules les plus abondantes de cette famille dans les eaux de rejet des STEP. Toutes les autres molécules présentent des niveaux médians de concentration inférieurs à 100 ng.L^{-1}. Ceux-ci sont voisins de 10 ng.L^{-1} pour 3 composés : le conjugué glucuronidé de la codéine, l'oxycodone et la buprénorphine. A titre de comparaison, en Grande Bretagne, Baker *et al.* ont détecté la codéine, la méthadone, l'EDDP ainsi que le tramadol dans la totalité des effluents analysés. Dans ces conditions, les fréquences de détection pour la morphine, l'oxycodone, la norcodéine et la buprénorphine étaient respectivement de 69, 58, 43 et 12%. Ces tendances sont donc comparables à celles observées ici. Cette similitude se confirme également en terme quantitatif : le tramadol et la codéine sont les molécules contribuant majoritairement à l'empreinte de la famille avec des concentrations médianes de 739 et 372 ng.L^{-1}. Ces concentrations sont proches de 10 ng.L^{-1} pour l'oxycodone et la buprénorphine et varient entre 24 et 60 ng.L^{-1} pour les autres molécules. En France, Nefau *et al.*, ont caractérisé l'occurrence de certaines de ces molécules dans 25 effluents de stations d'épuration sur l'ensemble du territoire. La morphine et l'EDDP ont été détectés dans respectivement 64%, et 77% des effluents (Nefau et al., 2013). Dans ces conditions, la fréquence de détection de la méthadone était de 19%. Cependant cette interprétation doit être mise en perspective avec les performances de la méthode pour ces composés : les LQ rapportées étaient de 5 ng.L^{-1} pour l'EDDP contre 40 ng.L^{-1} pour la méthadone (Nefau et al., 2013).

1.2.5. Les substances illicites

La méphédrone et la mCPP n'ont jamais été détectées. En revanche, les cocaïniques et amphétaminiques recherchés ont tous été quantifiés. En particulier, la cocaïne et son principal métabolite, la benzoylecgonine, présentent des fréquences de quantification de 100%. Celle-ci est de 90% pour la MDMA qui complète le podium des composés les plus présents dans cette catégorie. Il existe une grande différence dans l'empreinte des différents analytes dans la contamination des effluents. Avec une concentration médiane de 190 ng.L^{-1}, la benzoylecgonine, représente la contribution principale. En effet ces niveaux sont environ 10 fois inférieurs pour la cocaïne et la MDMA. Les résultats observés pour la benzoylecgonine sont similaires à ceux observés dans la ville d'Utrecht au Pays-Bas et supérieurs aux niveaux moyens rapportés dans les autres villes de la même étude (Bijlsma et al., 2012). Ils sont également supérieurs à ceux constatés en France (Karolak et al., 2010; Nefau et al., 2013) mais restent inférieurs aux valeurs maximales mesurées pouvant aller jusqu'à environ 900 ng.L^{-1} (Nefau et al., 2013). Concernant la MDMA, les résultats observés sont dans le même ordre de grandeur que ceux observés en région parisienne (0,7-10,2 ng.L^{-1}) (Karolak et al., 2010). Des valeurs similaires ont également été observées à l'étranger : des concentrations médianes de 13,4 ng.L^{-1} et de 12,7 ng.L^{-1} ont respectivement été évaluées au Royaume-Uni (Baker et al., 2013) et en Espagne (Postigo et al., 2010) et des concentrations moyennes aux alentours de 5 ng.L^{-1} ont été mesurées dans des effluents de stations d'épuration italiennes (Castiglioni et al., 2006b). Par ailleurs, ces niveaux de contamination sont tous inférieurs à ceux rapportés par d'autres études conduites en France (20-352 ng.L^{-1}) (Nefau et al., 2013) et à l'étranger où des concentrations moyennes de 56 et 82 ng.L^{-1} ont respectivement été observées en Espagne (Huerta-Fontela et al., 2008a) et aux Pays-Bas (Bijlsma et al., 2012)

1.2.6. Les antiépileptiques

Les antiépileptiques présentent une empreinte particulièrement importante dans la contamination des effluents de STEP. La gabapentine, la carbamazépine et la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine ont été quantifiées dans 100% des échantillons. L'oxcarbazépine a, quant à elle, été mesurée dans la moitié des cas (49%).

Comme l'illustre la FIGURE 4.3, les niveaux de contamination cumulés sont variables et peuvent aller du simple au double en fonction des différents sites d'étude. Ils étaient par exemple entre 4 850 et 5 750 ng.L^{-1} environ pour les STEP 1, 2 et 5 et entre 8 100 et 11 150 ng.L^{-1} environ pour les STEP 3, 4 et 6.

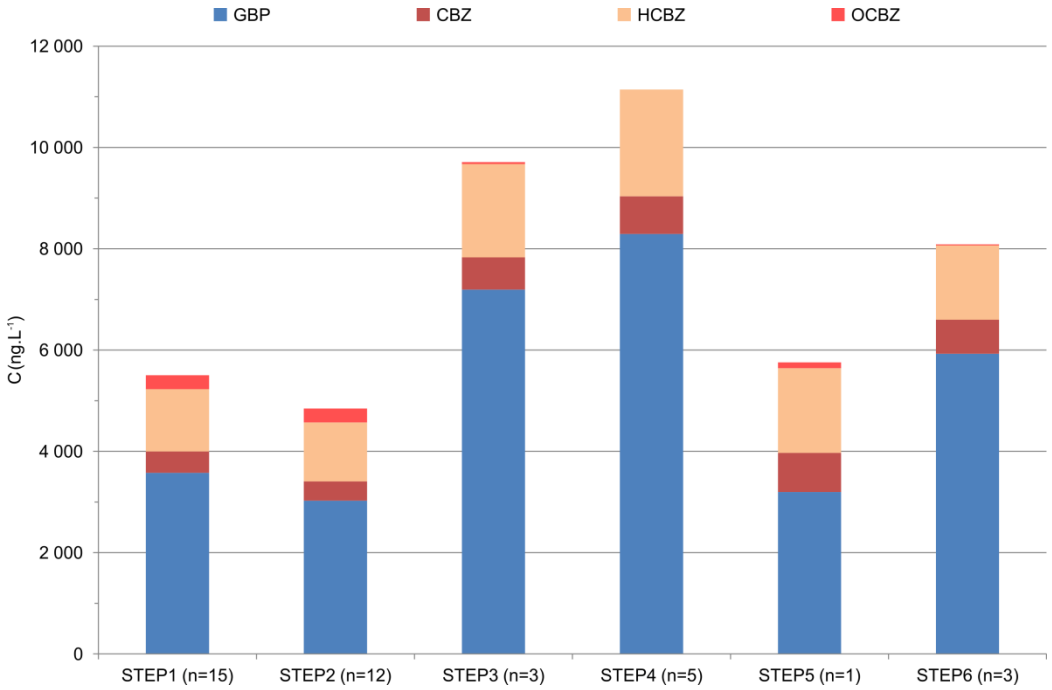


FIGURE 4.3 – Empreinte de la contamination des différents effluents par les antiépileptiques étudiés (somme des concentrations médianes exprimées en ng.L^{-1}).

Malgré ces différences dans l'empreinte globale de ces molécules dans les effluents étudiés, leur distribution par rapport à la concentration totale est similaire. En effet, quelque soit le site considéré, la gabapentine représente 60 à 70% du total de l'empreinte, la carbamazépine environ 10% et la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine 20%.

Le ratio parent/métabolite entre la carbamazépine et la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine est de 0,4 et presque constant quelque soit le site étudié (valeur moyenne de 0,39 ± 0,04 sur les 39 échantillons). En 2009, Wick *et al.*, ont fait des observations semblables dans une station allemande. En France, Leclercq *et al.* ont caractérisé de façon détaillée l'occurrence, dans les stations d'épuration, des antiépileptiques de la famille des dibenzoazépines en étudiant la carbamazépine, l'oxcarbazépine et 7 de leurs métabolites. La 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine apparait comme le principal métabolite détecté dans

l'ensemble des effluents étudiés et dont la concentration était toujours supérieure à celle du composé parent avec des ratios allant de 0,15 à 0,4 environ (Leclercq et al., 2009). Ces molécules ont également été caractérisées par Writer *et al.* dans plusieurs effluents de stations d'épuration du Minnesota. Les auteurs y ont observé un ratio parent métabolite avec la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxy-carbamazépine systématiquement supérieur à 1 avec des concentrations en carbamazépine jusqu'à 5 fois supérieures à celles de son métabolite (Writer et al., 2013). Ces ratios sont considérablement différents à la fois par rapport à ceux décrits dans les urines et ceux décrits dans les effluents de STEP. Cette différence pourrait s'expliquer par des phénomènes de dégradation lors du traitement impactant plus le métabolite que le composé parent. L'ensemble de ces résultats souligne l'importance de la caractérisation de couple parent/métabolite afin de mieux définir leur empreinte dans le niveau de contamination total des échantillons considérés.

Les composés antiépileptiques étudiés ont été mesurés à des concentrations allant de plusieurs centaines à plusieurs milliers de $ng.L^{-1}$. Le niveau de contamination médian en gabapentine a été évalué à environ 4 000 $ng.L^{-1}$. Ils étaient respectivement de 500 $ng.L^{-1}$ et 1 500 $ng.L^{-1}$ environ pour la carbamazépine et son métabolite dihydroxylé. A titre de comparaison, des concentrations comprises entre 86 et 258 $ng.L^{-1}$ pour la carbamazépine et entre 311 et 1 500 $ng.L^{-1}$ pour la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine ont été mesurés dans d'autres stations d'épuration françaises (Leclercq et al., 2009). Des concentrations médianes en carbamazépine et en 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine de 740 et de 1 600 $ng.L^{-1}$ ont été constatées en Allemagne (Wick et al., 2009). Enfin, des concentrations en carbamazépine entre plusieurs centaines de $ng.L^{-1}$ jusqu'à 1 $\mu g.L^{-1}$ environ ont été observées aux Etats-Unis (Writer et al., 2013).

1.2.7. Les psycholeptiques : benzodiazépines, méprobamate et *« Z-drugs »*

Les concentrations mesurées en psycholeptiques sont présentées en FIGURE 4.4. Celle-ci rassemble les concentrations minimales, maximales et médianes pour l'ensemble des molécules psycholeptiques étudiées.

L'ensemble de ces molécules a été quantifié dans 100% des échantillons à l'exception de l'alprazolam (97%) et de l'oxazépam glucuronide (18%). Parmi les 18 composés recherchés seuls le clonazépam, le zopiclone et le zopiclone-N-oxide n'ont été détectés dans aucun des échantillons.

D'un point de vue quantitatif, l'oxazépam, à la fois composé parent et métabolite commun à de nombreuses benzodiazépines, représente de loin la molécule la plus abondante de cette famille. Sa concentration médiane est de 1 300 $ng.L^{-1}$ et elle n'a jamais été quantifiée en dessous de 435 $ng.L^{-1}$. Pour les autres benzodiazépines, les concentrations mesurées n'excédaient pas 195 $ng.L^{-1}$. Concernant l'oxazépam, les niveaux de contamination sont considérablement plus élevés que ceux récemment décrits dans d'autres pays européens pour lesquels les concentrations étaient de environ 30 $ng.L^{-1}$ (Baker et al., 2013), 160 $ng.L^{-1}$ (Loos et al., 2013) et 330 $ng.L^{-1}$ (Grabic et al., 2012). Des concentrations plus importantes (339-994 $ng.L^{-1}$) ont été mesurées au Pays-Bas (Bijlsma et al., 2012) mais celles-ci restent inférieures aux données décrites ici. Celles-ci demeurent néanmoins cohérentes avec les résultats d'autres campagnes de mesures conduites dans certains des effluents étudiés. En effet des concentrations médianes respectives en oxazépam de 1 727 et de 1 533 $ng.L^{-1}$ ont été décrites dans les effluents des STEP 3 et 4 (Idder, 2012). Sur ces sites,

les niveaux de contamination médians mesurés étaient du même ordre de grandeur : 1 903 et 2 057 ng.L^{-1} respectivement. La forte consommation de benzodiazépines pourrait expliquer les résultats obtenus par rapport à ceux rapportés dans d'autres pays. A titre d'exemple, 134 millions de boîtes ont été vendues en France en 2010 touchant environ 20% de la population. Ces chiffres placent la France au deuxième rang, derrière le Portugal, des consommateurs de ce type de molécules sur le plan Européen (ANSM, 2013a).

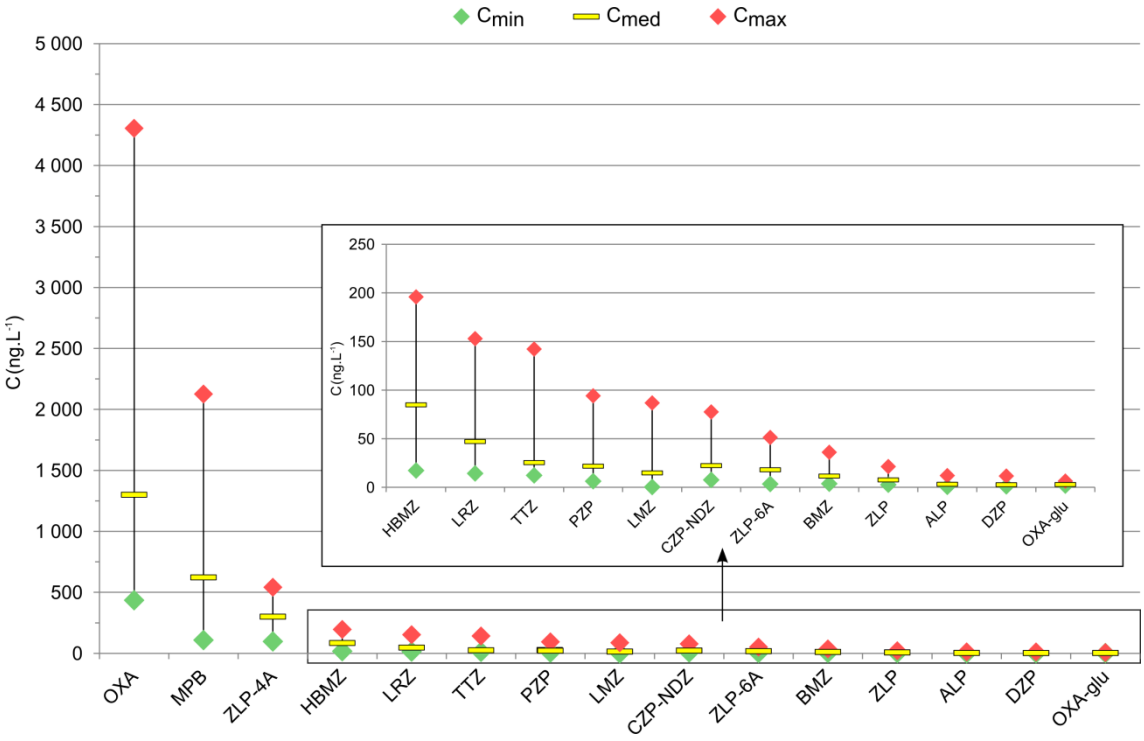


FIGURE 4.4 – Concentrations (exprimées en ng.L^{-1}) en psycholeptiques mesurées dans les 39 échantillons d'effluents analysés

Le méprobamate a été retiré du marché depuis janvier 2012. Certaines dates d'échantillonnages sont antérieures à ce retrait. Aussi, il a été mesuré à une concentration médiane de 623 ng.L^{-1}. Toutefois, le plan d'échantillonnage conduit ne permet cependant pas de décrire de façon certaine la conséquence de l'arrêt de sa commercialisation sur son occurrence dans les effluents.

L'acide zolpidem 4-phényl carboxylique a été caractérisé pour la première fois dans des effluents de STEP, avec une concentration médiane d'environ 300 ng.L^{-1}, il s'agit du troisième composé le plus abondant dans cette famille.

1.2.8. Autres médicaments de consommation courante

La FIGURE 4.5, représente l'occurrence des molécules sélectionnées parmis les médicaments de consommation courante dans chacune des stations d'épuration étudiées. A l'exception des conjugués glucuronidés et du carboxyibuprofène, les composés de cette catégorie ont été quantifiés à des fréquences voisines de 100%.

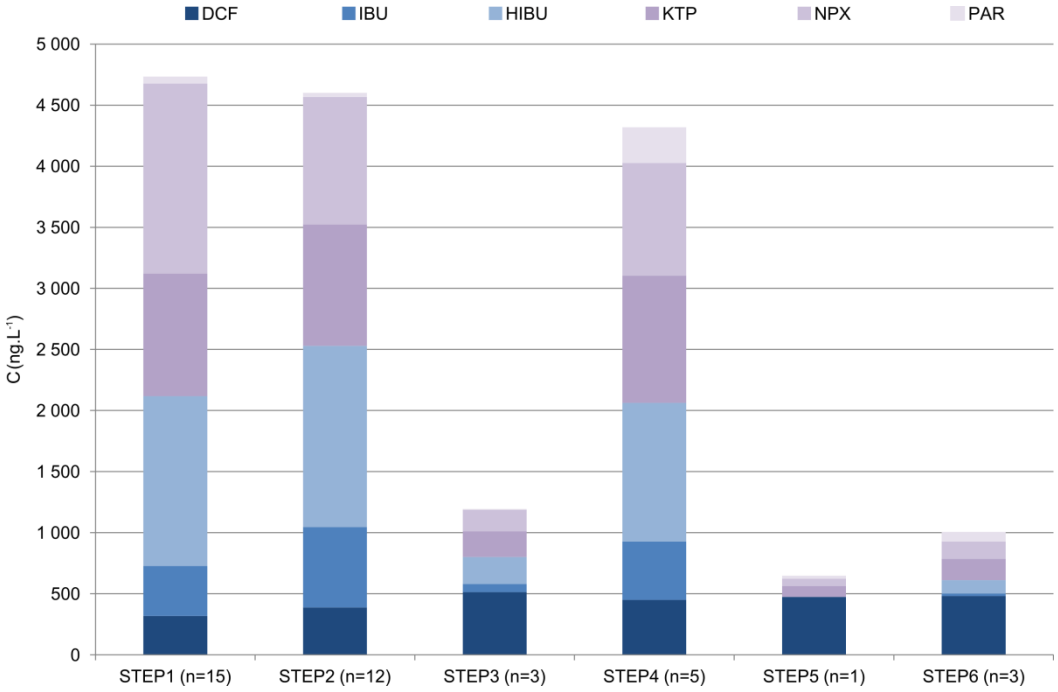


FIGURE 4.5 – Empreinte de la contamination des différents effluents par les médicaments de consommation courante étudiés (somme des concentrations médianes exprimées en ng.L^{-1}).

Les niveaux de concentration sont variables et dépendent des molécules et des sites étudiés. Bien qu'il ne s'agisse pas de la molécule quantifiée dans les concentrations les plus importantes, le diclofénac semble constituer un marqueur pertinent. En effet, il se départage du reste des analytes de part son homogénéité d'occurrence dans l'ensemble des effluents analysés. Au cours de cette étude, le diclofénac a été mesuré entre 136,8 et 544,1 ng.L^{-1} et à une concentration médiane de 384 ng.L^{-1}. Ces résultats sont cohérents avec les mesures effectuées dans d'autres stations d'épuration françaises dans le cadre du projet AMPERES (Soulier et al., 2011).

2. Etude de la contamination d'un petit cours d'eau : cas de la Jalle d'Eysines

La première étude de la contamination des eaux de surfaces par les composés étudiés a été effectuée au sein d'un petit cours d'eau.

2.1. Description du site et du déroulement de l'étude

Située dans communauté urbaine de Bordeaux, la Jalle d'Eysines est un petit affluent de la Gironde long de 32 kilomètres. Cette rivière constitue un site d'étude particulièrement intéressant dans l'étude de la contamination des eaux de surface par des composés organiques. En effet, la Jalle d'Eysines est impactée par les rejets de deux stations d'épuration. La première, la STEP de Cantinolle (STEP 1) présente une capacité de 85 000 équivalents habitants pour un débit journalier de référence de 18 700 m^3 et met en œuvre un traitement secondaire sur biofiltre. La seconde STEP (Blanquefort Lille 2) se situe environ 5 km avant la confluence avec la Gironde. Sa capacité est de 67 000 équivalents habitants et son débit de référence de 12 500 m^3/j. Les eaux y sont traitées par boues activées à aération prolongée. La localisation des différents points de prélèvement est présentée en FIGURE 4.6.

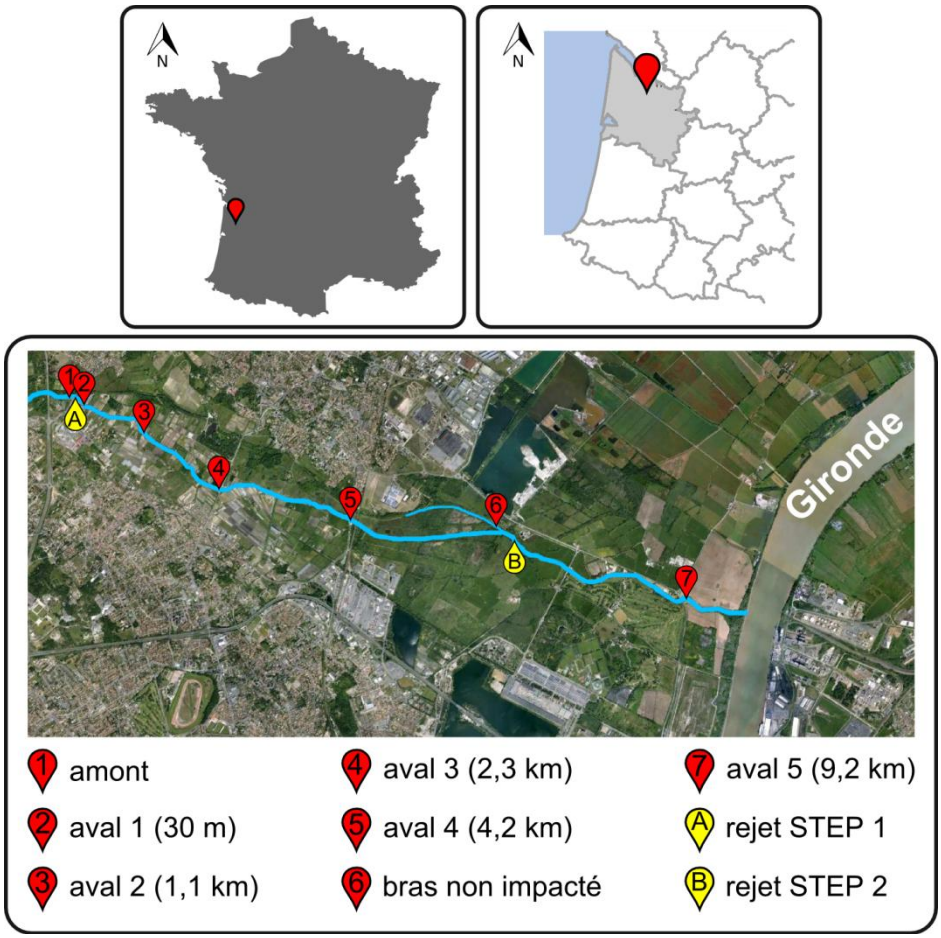


FIGURE 4.6 – Localisation des points de prélèvement étudiés dans la Jalle d'Eysines

Le premier point de mesure se situe en amont du rejet de la station d'épuration et le second se trouve 30 m en aval de celui-ci. Les points 3, 4, et 7 sont répartis le long du transect de la Jalle jusqu'à sa confluence avec la Gironde à des distances au rejet allant de 1,1 à 9,2 km. Le point de mesure 6 se situe quant à lui au niveau d'un bras de la Jalle dont l'origine se situe en amont de la station d'épuration. Les données physico-chimiques mesurées à chaque point de prélèvement sont fournies en ANNEXE 4.2.

L'ensemble des prélèvements a été effectué durant la journée du 12 décembre 2011. Les échantillons ont été transportés à +4°C jusqu'au laboratoire avant d'y être filtrés (0,7µm) puis stockés à -20°C jusqu'à extraction. Un échantillon composite 24 h d'effluent (du 11 au 12 décembre 2011) de la STEP 1 a également été prélevé.

2.2. Résultats

L'ensemble des résultats issus de cette campagne est détaillé en ANNEXE 4.2. En conséquence d'un problème analytique survenu lors de l'analyse des échantillons, les mesures pour les antidépresseurs de type ISRS n'ont pas été qualifiées et ne seront pas présentées. S'agissant d'une campagne ponctuelle, l'expérience n'a pas pu être réitérée. Par conséquent, l'exploitation des données pour cette classe de molécule n'a pas été possible.

2.2.1. Présence des composés recherchés dans les eaux de surface de la Jalle d'Eysines

33 composés sur 61 ont été détectés dans les eaux de surface analysées. Dans l'ensemble des classes de molécules étudiées, seuls les antiépileptiques ont tous été caractérisés dans les eaux de surfaces analysées. Parmi les substances illicites, 3 molécules ont été détectées : la cocaïne, la benzoylecgonine et la MDMA. Chez les anti-Alzheimer et les antidépresseurs recherchés, seule la mémantine, la venlafaxine et l'*O*-desméthylvenlafaxine ont été retrouvés. Pour les benzodiazépines en revanche, la majorité des composés a été mise en évidence dans au moins un échantillon et seulement 6 composés n'ont jamais été détectés : l'alprazolam, le clonazépam, le lormétazépam, l'oxazépam glucuronide, le zopiclone et son métabolite. 7 autres analytes n'ont également jamais été caractérisés parmi les opiacés et opioïdes. Il s'agit de la morphine, de la buprénorphine et de leurs conjugués glucuronidés ainsi que de la norcodéine et de l'oxycodone. Enfin l'ensemble des molécules sélectionnées comme médicaments de consommation courante a été détecté à l'exception des conjugués glucuronidés et du carboxyibuprofène.

Parmi les 33 composés détectés au moins une fois, 19 ont été quantifiés dans l'ensemble des échantillons d'eau de surface. De façon exhaustive, 3 antiépileptiques (CBZ, HCBZ, GBP), 1 anti-Alzheimer (MMT), 2 antidépresseurs (VLF, DVLF), 2 substances illicites (BZL, COC) 6 psycholeptiques (CZP-NDZ, OXA, PZP, ZLP-4A, ZLP-6A, MPB) 1 opiacé (COD), 1 opioïde (TMD) et 2 autres médicaments non psychotropes (DCF, PAR) figurent parmi les molécules affichant une fréquence de quantification de 100%. 12 autres analytes ont été quantifiés dans les 5 échantillons situés en aval du rejet de la STEP et 2 autres ont été quantifiés ponctuellement.

2.2.2. Comparaison amont/aval de la STEP

La FIGURE 4.7 présente pour une sélection représentative des analytes étudiés les concentrations mesurées en amont et en aval du rejet de la STEP dans la Jalle d'Eysines.

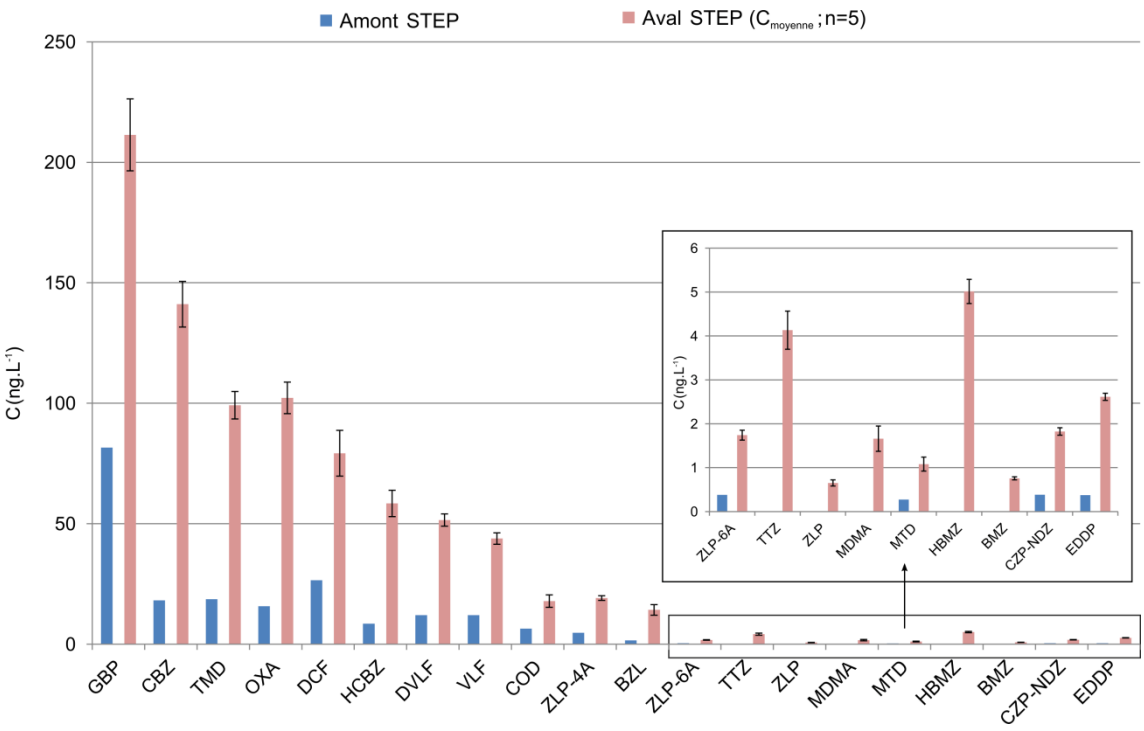


FIGURE 4.7 – Concentrations (exprimées en $ng.L^{-1}$) mesurées dans la Jalle d'Eysines en amont et en aval du rejet de la station d'épuration pour une sélection représentative de composés

Pour l'ensemble des composés analysés, à l'exception du paracétamol, les concentrations mesurées en aval du rejet de la station d'épuration sont nettement inférieures à celles observées en aval de la STEP 1.

Certains composés comme la gabapentine, la carbamazépine, le tramadol, l'oxazépam ou encore le diclofénac sont ubiquistes et leurs concentrations mesurées en amont du rejet sont relativement importantes : de 16 à 81 $ng.L^{-1}$ environ. Or les concentrations mesurées en aval du rejet sont au moins 3 fois supérieures y compris pour ces analytes. De plus, comme l'illustre la FIGURE 4.8, il existe une forte corrélation entre les concentrations mesurées dans l'effluent et en aval du rejet. L'ensemble de ces résultats confirme donc, sur la base de données expérimentales, que le rejet de la STEP constitue la source de contamination du milieu au niveau du système étudié. Plus particulièrement, la combinaison de faibles dispersions observées dans les concentrations mesurées en aval de la STEP 1 (FIGURE 4.7) et de leur relation avec celles mesurées à la source (FIGURE 4.8) indique la persistance environnementale des composés recherchés. En effet, aucune tendance n'a pu être observée dans les concentrations mesurées le long du transect étudié.

Concernant le point de prélèvement 7, aucune augmentation particulière dans les niveaux de contamination n'a été constatée. Il n'est toutefois pas possible de

conclure quant à l'impact des rejets de la STEP 2 sur la contamination du milieu étant donné que cet apport et concomitant avec celui du bras non impacté.

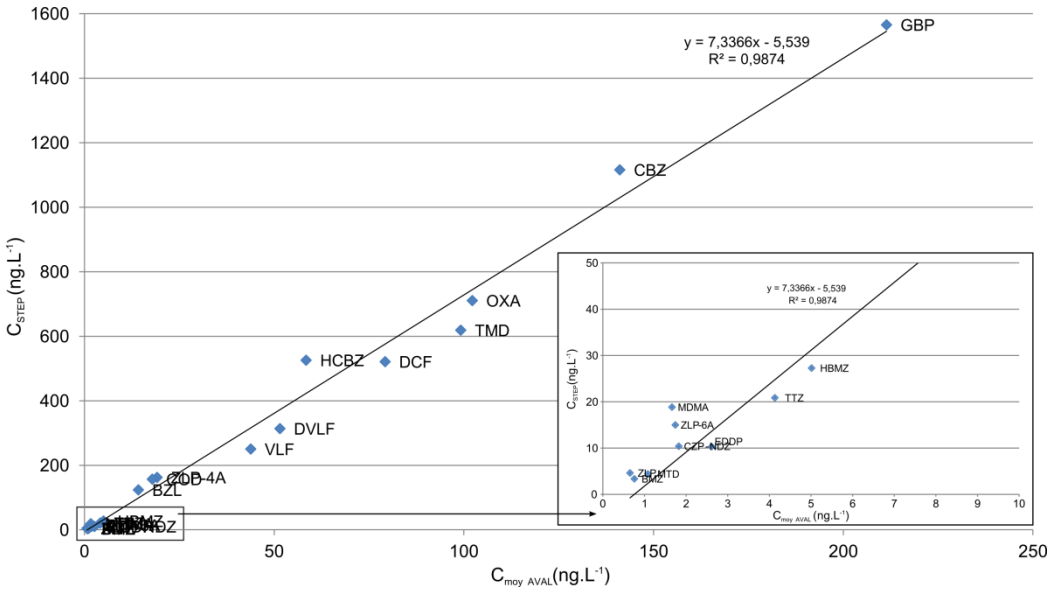


FIGURE 4.8 – Relation entre les concentrations (exprimées en ng.L^{-1}) mesurées dans l'effluent et en aval du rejet de la station d'épuration pour une sélection représentative de composés

2.2.3. Niveau de contamination

D'un point de vue quantitatif, les concentrations moyennes mesurées en aval de la STEP 1 étaient comprises entre 0,2 ng.L^{-1} pour le diazépam et 211 ng.L^{-1} pour la gabapentine. 4 composés présentaient des concentrations moyennes inférieures à 1 ng.L^{-1}, 13 autres molécules entre 1 et 10 ng.L^{-1} et les 16 derniers étaient présents à un niveau supérieur à 10 ng.L^{-1} dont 8 à des concentrations supérieures à 50 ng.L^{-1}.

Tout comme pour les campagnes de mesure en STEP, la gabapentine a été le composé mesuré avec les plus fortes concentrations. Celles-ci étaient comprises entre 167 à 244 ng.L^{-1} dans les échantillons en aval du rejet. De plus, la carbamazépine et son métabolite dihydroxylé ont été quantifiés à des concentrations pouvant aller jusqu'à 161 et 75 ng.L^{-1} respectivement. Les niveaux de contamination pour la carbamazépine sont du même ordre de grandeur que ceux rapportés dans des études précédentes conduites sur le même site (Lardy-Fontan, 2008; Togola, 2006). Les rapports de concentration parent/métabolite décrits lors des campagnes de mesures en STEP (partie 1) n'ont, en revanche, pas été observés ici. A l'inverse, la carbamazépine était plus abondante que la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine. Cette différence suggère des taux d'abattement variables pour ces composés durant le traitement d'épuration. Comme il l'a d'ailleurs déjà été souligné dans la partie précédente, des ratios parent/métabolite différents peuvent être observés selon les études (Leclercq et al., 2009; Wick et al., 2009; Writer et al., 2013). Par conséquent, il est donc intéressant de quantifier ces deux molécules simultanément lors de suivis environnementaux.

D'autres couples parent/métabolite ont été caractérisés comme par exemple, la venlafaxine et l'O-desméthylvenlafaxine, le bromazépam et le 3-hydroxybromazépam, le zolpidem et l'acide zolpidem 4-phenyl carboxylique ou encore la méthadone et

l'EDDP. Pour ces composés, les ratios observés sont comparables à ceux décrits lors des campagnes de mesures effectuées en stations d'épuration (voir partie 1). Les concentrations moyennes en aval du rejet étaient par exemple du même ordre pour la venlafaxine et son métabolite, 44 et 51 $ng.L^{-1}$ respectivement. Les métabolites du zolpidem, du bromazépam et de la méthode ont tous été quantifiés à des concentrations supérieures à celles de leurs composés parents d'un facteur 2 au minimum. Ces résultats confirment donc l'importance de l'étude des métabolites dans le suivi environnemental de ces substances.

Le tramadol et l'oxazépam font partie des psychotropes les plus abondants parmi les molécules recherchées. Cette observation fait écho à celles faites lors des campagnes de mesure en STEP. Les concentrations moyennes mesurées ici dans les eaux de surface prélevées en aval de la STEP 1 étaient proches de 100 $ng.L^{-1}$.

La cocaïne, son métabolite principal, la benzoylecgonine et la MDMA ont été caractérisées pour la première fois en France dans des eaux de surfaces. La concentration moyenne dans les échantillons en aval du rejet était de 14 $ng.L^{-1}$ pour la benzoylecgonine, de 1,9 $ng.L^{-1}$ pour la cocaïne et de 1,6 $ng.L^{-1}$ pour la MDMA.

Enfin, la mémantine est la seule molécule de la classe des anti-Alzheimer à avoir été retrouvée dans le milieu. Sa présence a été relevée dans la totalité des échantillons à des concentrations allant de 2,6 à 10,6 $ng.L^{-1}$.

3. Etude de la contamination de points de captage en eaux de surface provenant de 2 grands cours d'eau

Après avoir étudié la contamination au niveau d'un petit cours d'eau, la méthode a été appliquée à des eaux de surfaces de cours d'eau plus importants : la Seine et la Marne. Plus particulièrement, cette étude a été conduite au niveau de points de captage d'eau potable.

3.1. Description des sites et du déroulement de l'étude

3.1.1. Présentation des sites de prélèvement choisis

Les sites d'étude choisis pour ces campagnes de mesure se situent en île de France en amont de la ville de Paris. Leur localisation est présentée en FIGURE 4.9.

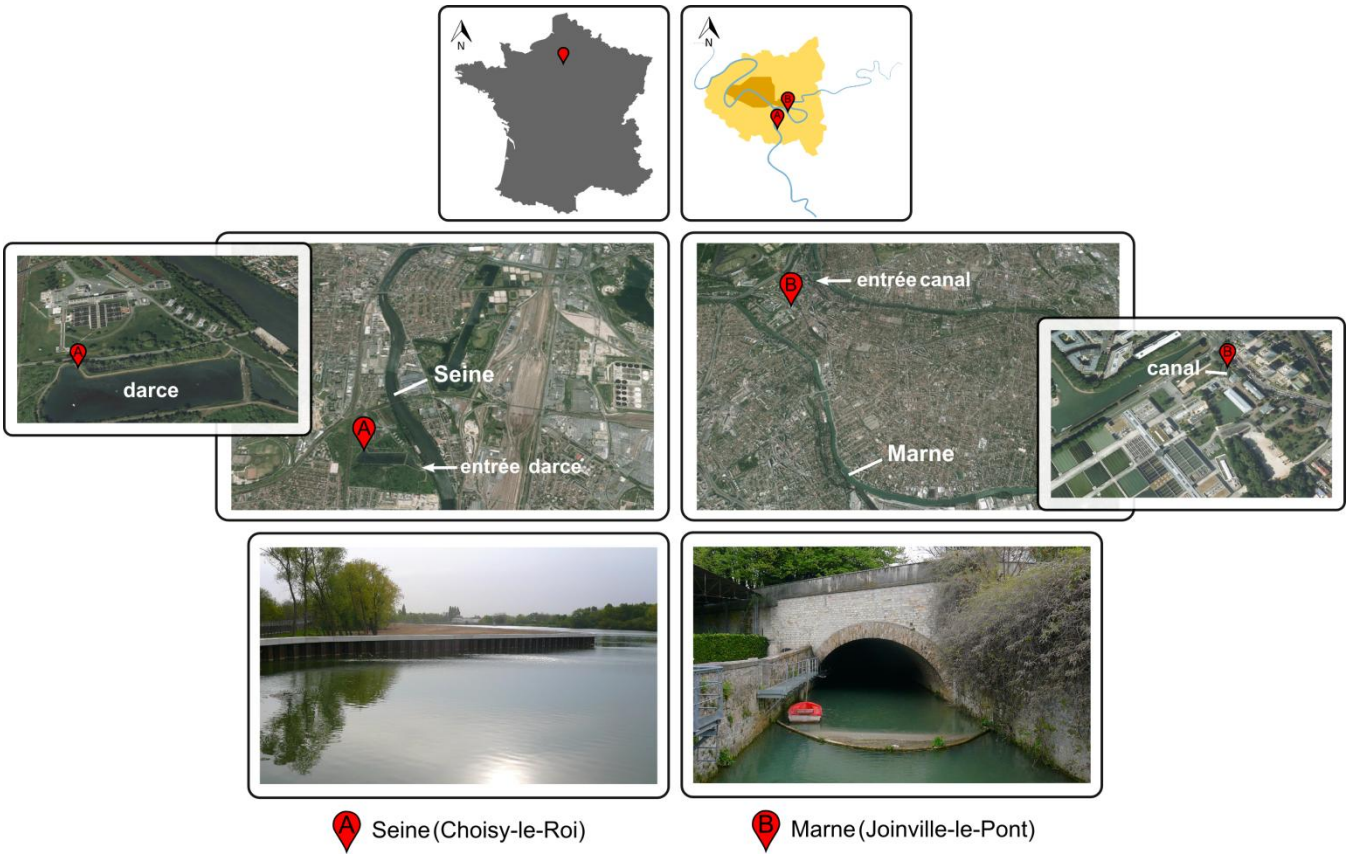


FIGURE 4.9 – Localisation des sites d'études au niveau de points de captage d'eau potable

Les points de prélèvements choisis se situent tous les deux au niveau de zones de captage d'eaux brutes d'usines de traitement d'eau potable.

Le premier point de prélèvement (A) se situe dans une darce dérivant l'eau de la Seine. A ce niveau le rejet direct de la station d'épuration la plus proche (Evry Centre et Corbeil-Essonnes) se situe à environ 25 km en amont. Le temps de

résidence des masses d'eau au sein de ce bassin est d'environ 24 heures (source : Eau de Paris).

Le second point de prélèvement (B) se situe à la fin d'un canal de dérivation de la Marne. Au niveau de l'entrée du canal, le rejet direct de la station d'épuration la plus proche se situe environ 20 km en amont (Lagny-sur-Marne Saint Thibault-des-vignes). Le temps de résidence des masses d'eau dans le canal est d'environ 2 à 3 heures (source : Eau de Paris).

Les dénominations « Seine » et « Marne » utilisées pour décrire la nature des échantillons prélevés, sont donc, dans le contexte de cette étude, des raccourcis de langage pour désigner respectivement les eaux « dérivées de la Seine » et « dérivées de la Marne ».

3.1.2. Présentation du plan d'échantillonnage

L'ensemble des échantillons a été prélevé à l'aide de bouteilles en verre ambré préalablement calcinées. Les échantillons ont ensuite été transportés à +4°C jusqu'au laboratoire avant d'être filtrés (0,7µm) puis extraits dans un délai maximum de 5 heures suivant le prélèvement.

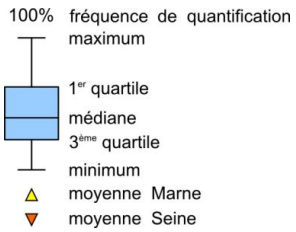
Un échantillon a été prélevé sur chacun des 2 sites lors de 5 journées différentes durant une période d'un mois environ. La première et la seconde campagne de mesure ont étés effectuées le 19 et le 30 avril 2013. Les trois suivantes ont eu lieu les 2, 6 et 14 mai 2013.

Un total de 10 échantillons d'eau de surface a donc été analysé lors de cette étude sur les eaux brutes captées en entrée d'usines de potabilisation en région Parisienne.

3.2. Résultats

3.2.1. Traitement des données

L'ensemble des résultats, incluant les fréquences de détection, de quantification et les concentrations moyennes et médianes est détaillé en ANNEXE 4.3. Pour le calcul de ces deux dernières, des valeurs égales à la moitié de la LQ ont été attribuées aux échantillons dans lesquels les analytes ont été détectés mais n'ont pu être quantifiés. Cette décision a été motivée par la volonté de prendre en compte les détections positives dans la démarche de sélection. Comme il l'a déjà été indiqué en préambule de ce chapitre, les discussions sur les niveaux de contamination seront axées sur les valeurs médianes. Aussi, afin d'apporter un niveau d'information supplémentaire et de rendre compte de la différence inter-sites observée, les concentrations moyennes en Marne et en Seine ont également été représentées. Les profils de contamination des analytes seront présentés de la façon suivante :



3.2.2. Occurrence et variabilité des niveaux de contamination sur les sites étudiés

Un peu plus de la moitié des composés recherchés a été caractérisée au cours des campagnes de mesure et 30 molécules sur 68 n'ont jamais été détectées. Sur la totalité des analytes recherchés, 31 ont été quantifiés dans au moins 1 échantillon. Aussi, environ la moitié (14/31) des analytes quantifiés présentait des concentrations médianes inférieures à 1 $ng.L^{-1}$ et environ 40% entre 1 et 10 $ng.L^{-1}$. Seulement 5 composés ont été caractérisés à des concentrations supérieures : la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine, l'oxazépam, le tramadol, la gabapentine et le paracétamol (concentration médiane proche de 100 $ng.L^{-1}$.)

Peu de variabilié a été mise en évidence dans les niveaux de contamination des eaux de chacun des sites durant la période de l'étude. Comme l'illustre la FIGURE 4.10, les coefficients de variation des concentrations mesurées en Seine et en Marne sont proches de 20% pour la majorité des composés, la plus grande disparité dans les résultats ayant été observée pour le kétoprofène en Seine.

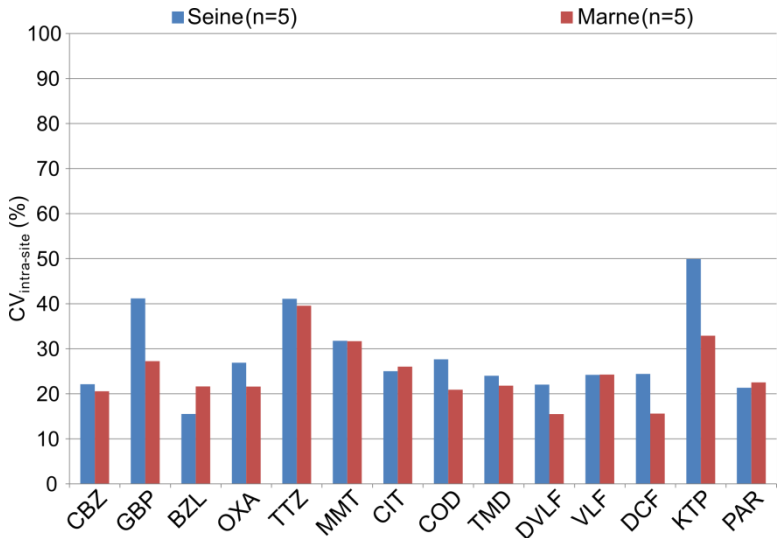


FIGURE 4.10 – Coefficients de variation des concentrations mesurées sur chaque site durant la campagne de mesure pour une sélection représentative de composés

De plus, la variation des débits durant les 5 campagnes était négligeable. A la vue des résultats observés, il semblerait donc que la contamination du milieu au niveau intra-site soit homogène quel que soit le composé et sa famille thérapeutique ou chimique.

Au niveau inter-site, les concentrations mesurées lors de chacune des campagnes ont été comparées deux à deux. Comme l'illustre la FIGURE 4.11, l'écart relatif constaté entre la contamination de chacun des sites est molécule-dépendant mais se situe à une valeur moyenne de 30%.

A l'exception de l'oxazépam et du prazépam, les concentrations mesurées en Marne étaient toutes supérieures à celles mesurées en Seine. Ce phénomène a également été observé dans une étude conduite sur les mêmes sites de 2011 à 2013 portant notamment sur le paracétamol, l'ibuprofène, le 2-hydroxyibuprofène et la carbamazépine (communication orale Lavison et al., 2013)

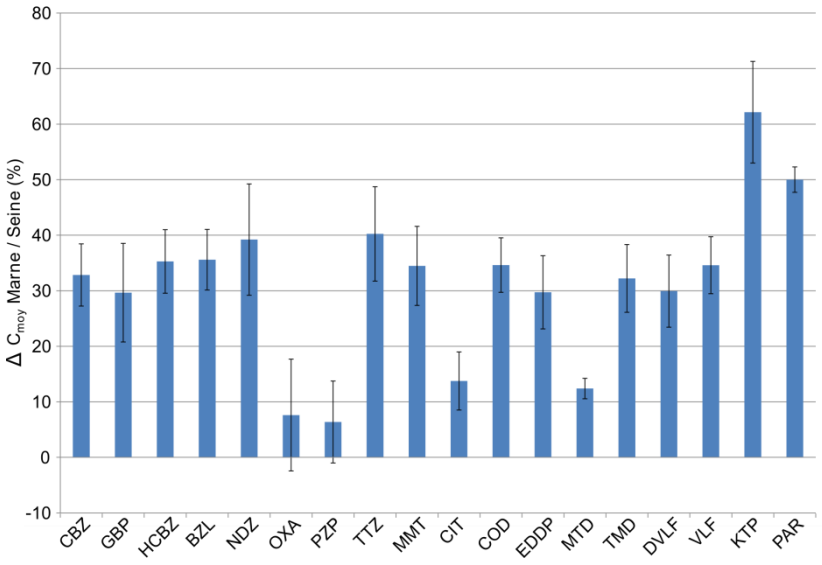


FIGURE 4.11 – Ecarts relatifs, exprimés en %, des niveaux de contamination moyens observés entre les deux sites étudiés pour les composés les plus fréquemment quantifiés.

Plusieurs raisons pourraient expliquer cette différence. D'abord, des niveaux intrinsèquement différents pourraient être liés à une plus forte contamination locale (rejets de stations d'épurations et éventuellement aux rejets non-raccordés). De plus, les débits de la Seine étant plus importants que ceux de la Marne (ex. voire ANNEXE 4.5), la dillution des rejets éventuels y est plus importante. Enfin, le temps de résidence des masses d'eau dans la darce de la Seine où ont été effectués les prélèvements est de 24 h et des phénomènes de dégradation sont suceptibles de survenir dans ce bassin par lagunage.

3.2.3. Les antidépresseurs

La FIGURE 4.12 présente les profils de contamination pour les antidépresseurs les plus fréquemment quantifiés.

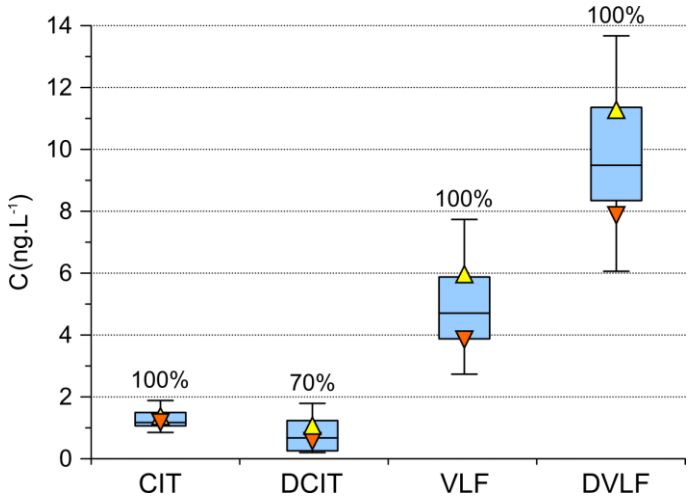


FIGURE 4.12 – Profils de contamination des antidépresseurs les plus fréquemment quantifiés sur les sites d'étude (n=10)

Parmi les antidépresseurs ISRS, seuls le citalopram et son métabolite ont été quantifiés dans respectivement 100 et 70% des cas à des concentrations médianes de 1,2 et 0,7 ng.L^{-1}. La fluoxétine a été détectée avec une fréquence de 40% à des concentrations inférieures à sa limite de quantification qui est de 3,7 ng.L^{-1}. Les autres composés de cette famille n'ont jamais été détectés.

Chez les autres antidépresseurs, deux molécules ont principalement été caractérisées : la venlafaxine et la desméthylvenlafaxine, la miansérine ayant été détectée dans 4 échantillons et quantifiée une seule fois. Dans cette famille de composés, la venlafaxine et son métabolite ont été mesurés à des concentrations médianes de 4,7 et 9,5 ng.L^{-1}. Ces deux molécules représentent de loin l'apport majoritaire dans l'empreinte environnementale des antidépresseurs étudiés. Les ratios parent/métabolite étaient quant à eux d'environ de 0,5 sur chacun des sites étudiés ce qui contraste par rapport aux résultats rapportés précédemment (≈1 campagnes STEP et Jalle). Une telle différence peut néanmoins s'expliquer par des phénomènes de dégradation dans l'environnement comme l'a mis en évidence une étude récente (Rúa-Gómez et al., 2013). Les auteurs indiquent que la photodégradation indirecte constitue le mécanisme principal de dégradation dans l'environnement de la venlafaxine et la desméthylvenlafaxine. Les temps de demi-vie observés sous lumière naturelle dans des échantillons d'eau de surface étaient alors 6 à 8 fois plus grand pour le métabolite (Rúa-Gómez et al., 2013). D'un point de vue quantitatif, des niveaux de contamination similaires à ceux observés en Seine et en Marne ont été constatés en Espagne à l'entrée d'une usine de potabilisation. Les ratios parent/métabolite présentaient en revanche une tendance inverse. En effet, les concentrations moyennes rapportées en venlafaxine et desméthylvenlafaxine étaient respectivement de 12 et 5 ng.L^{-1} (Huerta-Fontela et al., 2011).

3.2.4. Les antiépileptiques

L'empreinte environnementale des molécules antiépileptiques au niveau des deux sites d'étude est présentée en FIGURE 4.13.

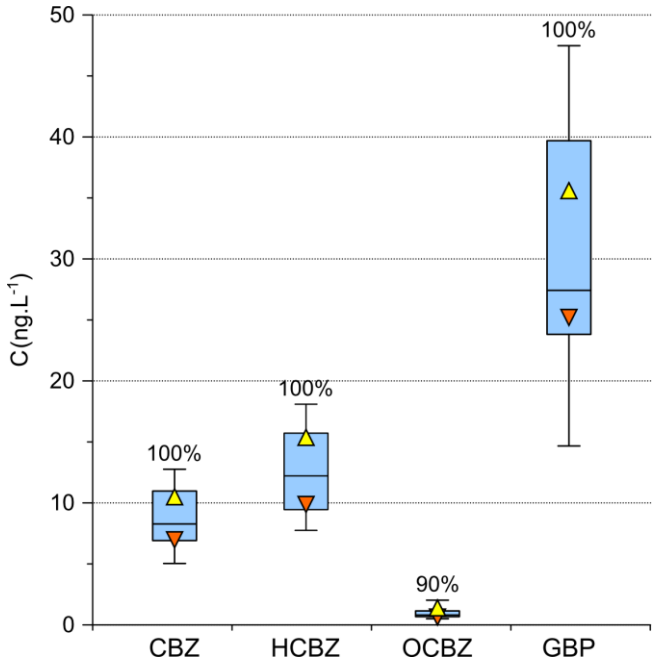


FIGURE 4.13 – Profils de contamination en antiépileptiques sur les sites d'étude (n=10)

Tout comme l'avaient mis en évidence les campagnes de mesure précédentes, les antiépileptiques font partie des psychotropes les plus abondants dans les échantillons environnementaux étudiés. Les 4 composés étudiés ont presque tous été quantifiés dans l'ensemble des échantillons à l'exception de l'oxcarbazépine pour lequel la fréquence de quantification était de 90%.

La gabapentine est le composé présentant les concentrations les plus importantes. Celles-ci étaient comprises entre 14,7 et 47,5 $ng.L^{-1}$ avec une valeur médiane de 27,4 $ng.L^{-1}$. La carbamazépine et la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazpéine étaient présentes à des concentrations voisines de 8 et 12 $ng.L^{-1}$ respectivement. Les niveaux de contamination constatés sont du même ordre de grandeur que ceux décrits dans d'autres études. En 2011, des eaux de surfaces destinées à la consommation humaine en région Rhône-Alpes ont été analysées et la concentration moyenne en carbamazépine était alors de 25 ngL^{-1} (Vulliet et al., 2011). Auparavant Rabiet *et al.* l'avaient également caractérisé à des concentrations de 13,9 et 43,2 $ng.L^{-1}$ au niveau de deux points de captage d'eau potable situés dans le sud de la France (Rabiet et al., 2006). De plus, à l'étranger, des concentrations moyennes en carbamazépine de 4,1 et 13 $ng.L^{-1}$ ont été observées respectivement au Etats-Unis (Benotti et al., 2009) et en Espagne (Huerta-Fontela et al., 2011) à l'entrée d'usines de potabilisation.

Dans les conditions de la campagne de mesure, un ratio parent/métabolite de 0,7 a été observé pour la carbamazépine et la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine. Ces proportions sont inverses par rapport à celles observées lors de la campagne en Jalle d'Eysines. En revanche, elles sont cohérentes avec celles observées lors des campagnes en STEP dans le sens où la concentration du métabolite est supérieure à celle du parent. Ces proportions demeurent toutefois significativement différentes (un ratio moyen de 0,4 avait été observé dans les effluents). Les ratios parent/métabolite peuvent être impactés par de nombreux facteurs. D'une part, l'excrétion du métabolite suite à l'absorption d'un autre composé comme l'oxcarbazépine peut par exemple contribuer à le diminuer. D'autre part, le rejet de médicament non consommé peut participer à son augmentation. Enfin et de façon non exhaustive, différents phénomènes de sorption, d'oxydation, d'hydrolyse, de (bio)dégradation et de photodégradation peuvent conduire à la modification de ce rapport. Cette combinaison d'évènements susceptibles d'intervenir au sein de la station d'épuration et/ou dans l'environnement est difficilement évaluable. Des études ont par exemple montré que la cinétique de photodégradation de la carbamazépine est considérablement accélérée en présence d'ions chlorure ou de nitrate (Chiron et al., 2006) et ralentie en présence de substances humiques (Lam et al., 2005). Dans ces conditions et étant donné la forte occurrence de ces molécules dans l'environnement, le suivi simultané des deux analytes apparait comme le meilleur moyen d'évaluer la contamination globale de ce type de composés.

3.2.5. Les opiacés et les opioïdes

Les résultats concernant les opiacés et les opioïdes sont présentés en FIGURE 4.14. La buprénorphine, la buprénorphine glucuronide, les conjugués glucuronidés de la morphine et l'oxycodone n'ont pas été détectés durant les campagnes de mesure.

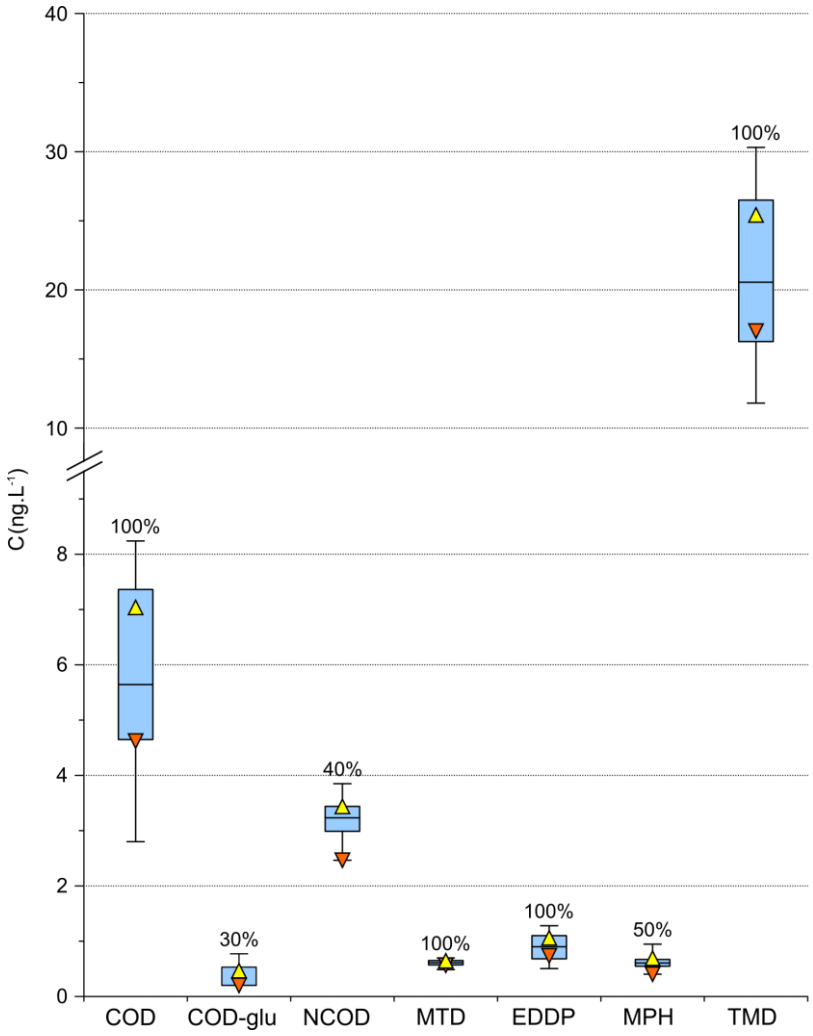


FIGURE 4.14 – Profils de contamination en opiacés et en opioïdes sur les sites d'étude (n=10)

Le tramadol et la codéine constituent les contributions majoritaires dans l'empreinte de cette famille et ont été quantifié dans l'ensemble des échantillons. Pour ces composés, il existe une grande proximité de morphisme entre les données de vente et les données d'occurrence environnementale observées lors des campagnes de mesure. En effet, l'ixprim® (tramadol en association avec du paracétamol) est la seconde spécialité la plus vendue en France en 2012 parmi les médicaments soumis à prescription. Toutes spécialités et principes actifs confondus, le tramadol est au 7eme rang des molécules actives les plus vendue en officine (ANSM, 2013c). Dans ce classement, la codéine utilisée en association est en seconde position. Aussi, en considérant les doses en termes d'équivalent massique le tramadol apparait comme la molécule la plus consommée de cette famille (voir Chapitre 1). D'un point de vue quantitatif, le tramadol a été mesuré dans la totalité des échantillons à des concentrations allant de 11,8 à 30,3 ng.L^{-1}. Le niveau de concentration médian de codéine était de 5,6 ng.L^{-1} pour l'ensemble des échantillons.

La méthadone et son métabolite, l'EDDP, ont également été quantifiés dans 100% des cas à des concentrations respectives de 0,6 et 0,9 ng.L^{-1} environ. En 2009, Boleda *et al.* ont publié les résultats de l'analyse d'eaux de surface à l'entrée d'une usine de potabilisation située en Catalogne. L'ensemble des opiacés et des opioïdes

mesuré a été caractérisé à des concentrations plus importantes. A titre d'exemple, elles étaient comprises entre 14 et 75,7 ng.L^{-1} pour la codéine, entre 5,2 et 31,4 ng.L^{-1} pour l'EDDP et entre 1,9 et 9,4 ng.L^{-1} pour la méthadone (Boleda et al., 2009).

Enfin, le conjugué glucuronidé de la codéine a été quantifié dans 30% des échantillons. Les niveaux de concentration par rapport au composé parent sont beaucoup plus faibles que ce que pourrait laisser envisager le taux d'excrétion urinaire. Cela n'est pas étonnant dans la mesure où des phénomènes de deglucuronidation durant les traitements ont été décrits pour les hormones notamment (D'Ascenzo et al., 2003; Ternes et al., 1999). Il est d'ailleurs couramment admis que cette réaction est totale. Les résultats présents indiquent que le clivage de ces conjugués n'est pas systématique et que même s'il reste important, des traces peuvent être mises en évidence dans l'environnement dans certains cas.

3.2.6. Les benzodiazépines et les molécules apparentées

La FIGURE 4.15 présente les profils de contamination en benzodiazépines et en *« Z-drugs »* sur les sites d'étude.

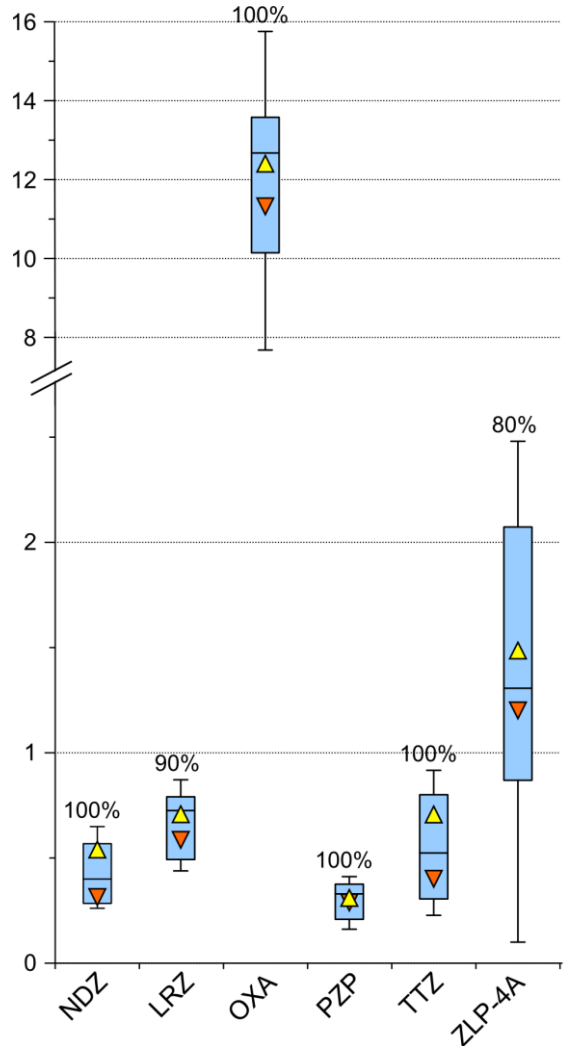


FIGURE 4.15 – Profils de contamination en benzodiazépines et *« Z-drugs »* sur les sites d'étude (n=10)

La majorité des composés sélectionnés au sein de cette famille a été caractérisée : 6 analytes ont été quantifiés dans presque tous les échantillons, 4 autres ont été détectés à des niveaux inférieurs à leur LQ et les 7 derniers n'ont jamais été détectés. Conformément aux observations faites au cours des campagnes précédentes (STEP et Jalle), le caractère ubiquiste de l'oxazépam est confirmé. Il s'agit de la benzodiazépine la plus abondante. Ces résultats sont par ailleurs cohérents avec ceux de la campagne nationale d'occurrence des médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine où l'oxazépam a été identifé parmi les molécules les plus fréquemment détectées et quantifiées (ANSES - Laboratoire+ d'Hydrologie de Nancy, 2011).

Le niveau de contamination médian en oxazépam a été observé à 12,7 $ng.L^{-1}$. Celui-ci est considérablement plus élevé que ceux de l'ensemble des autres benzodiazépines. En effet, le nordazépam, le lorazépam, le prazépam et le tétrazépam ont été mesurés à des concentrations médianes entre 0,3 et 0,7 $ng.L^{-1}$. D'autres études rapportent des concentrations en oxazépam du même ordre de grandeur dans des eaux de captage. Elles ont été mesurées à 25 $ng.L^{-1}$ en moyenne en France (Vulliet et al., 2011) et à 20 $ng.L^{-1}$ en Espagne (Huerta-Fontela et al., 2011). Les valeurs observées au cours des campagnes menées en Seine et en Marne pour les autres benzodiazépines sont en revanche inférieures à celles rapportées dans ces mêmes études (Huerta-Fontela et al., 2011; Vulliet et al., 2011).

Dans la catégorie des molécules hypnotiques rassemblant le zolpidem, le zopiclone et leurs métabolites, 2 molécules ont été détectées. Le niveau de contamination moyen d'acide zolpidem 4-phényl carboxylique était légèrement supérieur à 1 $ng.L^{-1}$ tandis que le composé parent n'a jamais été détecté au dessus de sa limite de quantification.

3.2.7. Les anti-Alzheimer

Les résultats du screening des médicaments anti-Alzheimer ont mis en évidence la présence de mémantine, et de donépézil. La première a été quantifiée dans la totalité des échantillons et la seconde a été détectée à deux reprises sans toutefois pouvoir être déterminée de façon quantitative. Les concentrations mesurées en mémantine étaient comprises entre 0,26 et 0,75 $ng.L^{-1}$.

3.2.8. Les substances illicites

Concernant les substances illicites, seules la benzoylecgonine et la cocaïne ont été caractérisées dans les eaux de surfaces analysées. Plus particulièrement, la cocaïne a été détectée dans l'ensemble des échantillons mais n'a jamais été quantifiée. La fréquence de quantification de la benzoylecgonine était quant à elle de 100% avec des concentrations comprises entre 0,43 et 1,07 $ng.L^{-1}$. Ces résultats témoignent d'un impact relativement faible de ce type de composés sur la contamination de ce type d'échantillons. A titre de comparaison, d'autres échantillons d'eau de captage ont été analysés à l'étranger par Huerta-Fontela *et al*. En 2007, les concentrations moyennes en benzoylecgonine, en cocaïne et en MDMA étaient respectivement de 77, 6 et 3 $ng.L^{-1}$ à l'entrée d'une station de potabilisation (Huerta-Fontela et al., 2007). L'année suivante, une autre campagne a été conduite au niveau d'un point de captage d'eau potable durant une année. Des concentrations moyennes allant de 15 à 150 $ng.L^{-1}$ ont été rapportées par les auteurs pour la benzoylecgonine. Pour la cocaïne, les concentrations moyennes étaient inférieures à la LQ (0,2 $ng.L^{-1}$)

durant les mois de mars à mai et pouvaient atteindre 60 $ng.L^{-1}$ durant les mois de décembre à février. Enfin la MDMA a été quantifiée en moyenne de 1 à 40 $ng.L^{-1}$ (Huerta-Fontela et al., 2008b).

4. Etude de la contamination d'un grand cours d'eau : cas de la Seine au niveau de la ville de Paris

Dans l'optique de poursuivre le travail de sélection de contaminants pertinents pour le développement d'une méthode de référence, le *« monitoring »* environnemental s'est poursuivi par l'analyse des eaux de surfaces de la Seine au niveau de la ville de Paris.

4.1. Description des sites et du déroulement de l'étude

4.1.1. Présentation des sites de prélèvement choisis

Les sites de prélèvement de cette campagne de mesure sont présentés en FIGURE 4.16. Afin d'intégrer une représentativité spatiale aux données générées, 4 points ont été choisi le long d'un transect longitudinal d'une dizaine de kilomètres au niveau de la ville de Paris.

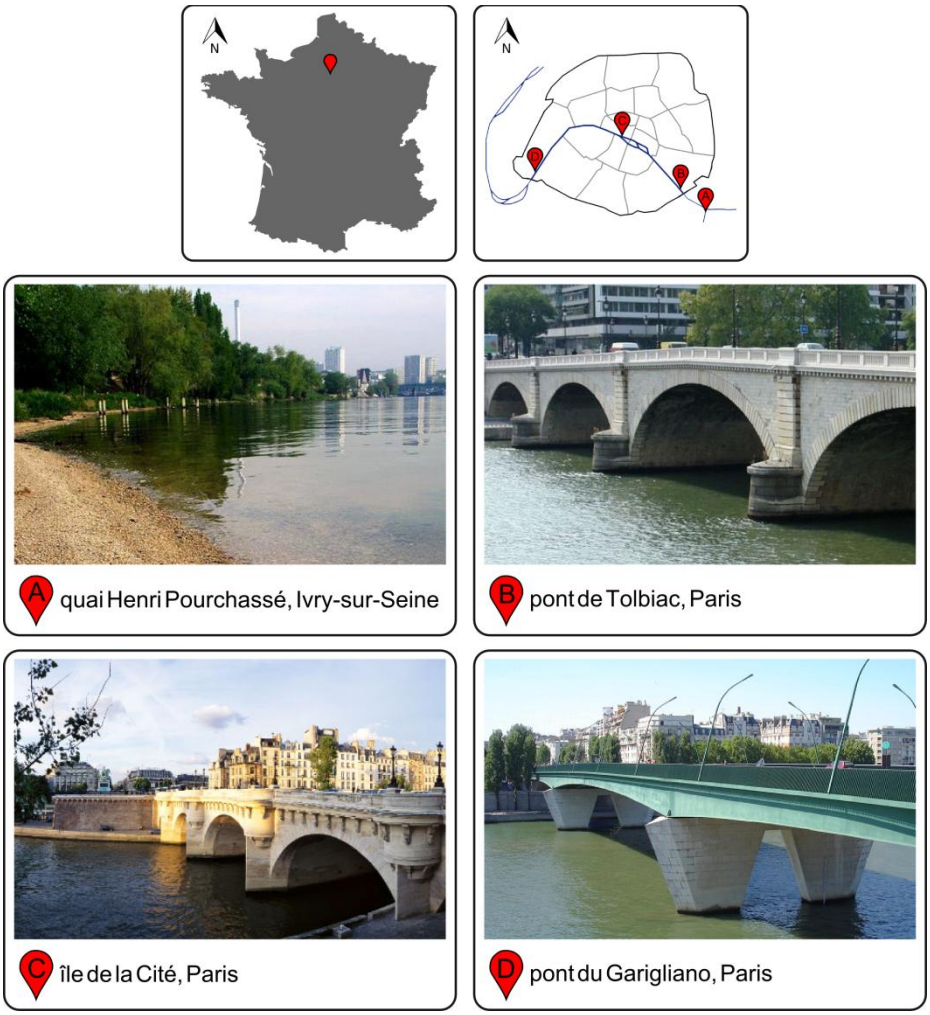


FIGURE 4.16 – Localisation des points de prélèvement sur le transect de Seine étudié

Le premier point de prélèvement (A) se situe au niveau d'Ivry-sur-Seine avant la confluence de la Marne avec la Seine. L'ensemble des autres points de prélèvement se trouvent, quant à eux, après la confluence à environ 3,5 ; 7,5 et 13 km en aval au niveau du pont de Tolbiac (B), de l'île de la Cité (C) et sur le pont du Garigliano (D).

A la différence de l'étude précédente, les masses d'eau étudiées circulent à un débit important (voir ANNEXE 4.5). De plus, la Seine est impactée par le rejet d'une station d'épuration de capacité de 3 600 000 équivalents habitants pour un débit de référence de 800 000 m^3/j environ 4 km en amont du point de prélèvement d'Ivry-sur-Seine. Une station d'épuration de capacité de 550 000 équivalents habitants et d'un débit de référence de 30 000 m^3/j rejette ses effluents dans la Marne 13 km environ en amont de la confluence avec la Seine.

4.1.2. Présentation du plan d'échantillonnage

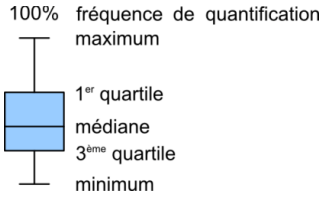
L'ensemble des échantillons a été prélevé à l'aide de bouteilles en verre ambré préalablement calcinées. Les échantillons ont ensuite été transportés à +4°C jusqu'au laboratoire avant d'être filtrés (0,7µm) puis extraits dans un délai maximum de 5 heures suivant le prélèvement.

5 campagnes de mesures se sont déroulées à une fréquence mensuelle sur une période de 4 mois en 2013 : 14 mai, 12 juin, 9 juillet, 13 août et 27 août. Lors de la dernière campagne, le site d'Ivry-sur-Seine n'a pas pu être étudié. Ainsi, durant cette étude, un total de 19 échantillons d'eau de surface a été analysé.

4.2. Résultats

4.2.1. Traitement des données

L'ANNEXE 4.4 rassemble les données issues de cette étude. Elle détaille, les résultats de chacune des campagnes de mesures ainsi que les fréquences de détection, de quantification et les concentrations minimales, maximales, moyennes et médianes. Dans le cadre de la démarche de hiérarchisation et comme il l'a été expliqué dans la partie 3 concernant le calcul des moyennes et des médianes, des concentrations égales à la moitié de la LQ ont été attribuées aux échantillons dont les analytes ont été détectés mais n'ont pu être quantifiés. Au cours de ce paragraphe, les profils de contamination des analytes seront présentés sous la forme suivante :



4.2.2. Occurrence des composés recherchés sur les sites étudiés

La majorité des composés recherchés a été caractérisée dans les eaux de la Seine lors de cette étude. Sur les 48 analytes détectés au moins une fois dans les échantillons, 42 l'ont été au dessus de leur limite de quantification. Un peu plus d'un tiers d'entre eux (36%) ont été mesurés à des concentrations médianes inférieures à 1

ng.L^{-1}, 40% entre 1 et 10 ng.L^{-1} et le quart restant (24%) a été quantifié au dessus de 10 ng.L^{-1}.

4.2.3. Variabilité des niveaux de contamination : cas des antiépileptiques

Les mesures se sont réparties entre mai et août à fréquence mensuelle pour les 3 premiers mois et bimensuelle pour le dernier. L'analyse des données obtenues sur l'ensemble de l'étude révèle une faible variation sur le transect étudié avec toutefois des différences plus marquées dans le temps (ANNEXE 4.4). La FIGURE 4.17 présente les concentrations cumulées en antiépileptiques durant la campagne de mesure en Seine. Chacun d'entre eux y est détaillé en fonction des sites d'échantillonnage.

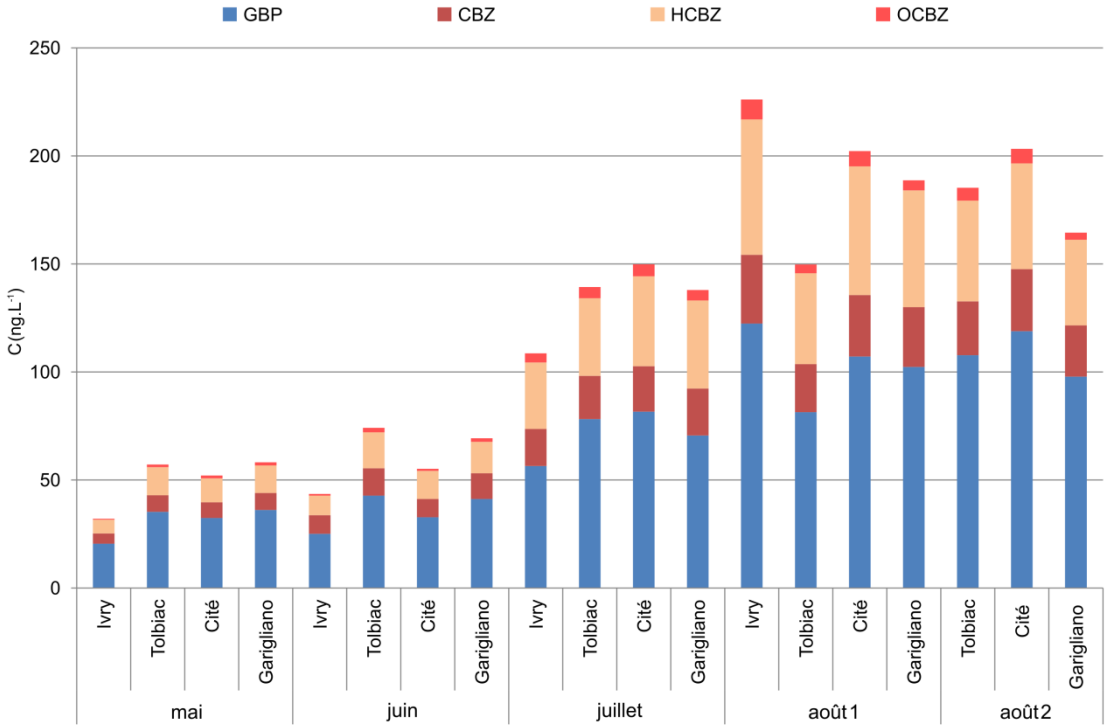


FIGURE 4.17 – Concentrations cumulées en antiépileptiques durant les campagnes de mesure en Seine

Les 4 molécules recherchées de cette famille ont été quantifiées dans la totalité des échantillons. La contamination du milieu ne semble pas constante sur la période de la campagne : pour la gabapentine, un écart du simple au sextuple est observé entre les concentrations minimales (mois de mai) et maximales (mois d'août). Cette tendance a été observée pour l'ensemble des analytes étudiés quelle que soit leur famille chimique ou thérapeutique. En outre, les niveaux de contamination étaient systématiquement plus faibles en mai et en juin qu'en août. La variabilité observée à l'échelle spatiale sur l'ensemble des points d'échantillonnage est négligeable par rapport à celle constatée à l'échelle temporelle sur la durée de l'étude. Les coefficients de variation des concentrations mesurées entre les sites étaient proches de 20% pour la majorité des composés sur la durée d'une campagne de mesure. Les coefficients de variation des concentrations mesurées entre les 5 campagnes sur un même site étaient quant à eux en moyenne de l'ordre de 55%. Cette variabilité pourrait être expliquée par les changements du débit de la Seine. En effet, des baisses respectives

de 73 et 80% des débits de la Marne et de la Seine ont été observées entre le mois de mai et le mois d'août (ANNEXE 4.5). Ainsi, la hausse des concentrations mesurées dans le milieu pourrait être conséquente à une diminution de la dilution des rejets amont aux sites de l'étude.

Comme l'illustre la FIGURE 4.18 les contributions individuelles de chaque molécule dans l'empreinte totale de la famille sont constantes quelque soit le niveau de contamination mesuré. Par ailleurs, ces distributions sont comparables à celles observées dans les eaux de captage. Pour les antiépileptiques, la gabapentine représente environ 57 % de l'apport total. La carbamazépine et la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxy-carbamazépine y contribuent à environ 15 et 25 % respectivement, ce qui correspond à un ratio parent/métabolite de 0,6 environ. Enfin dans ces conditions l'oxcarbamazépine représente environ 3% de la concentration cumulée pour cette famille de composés.

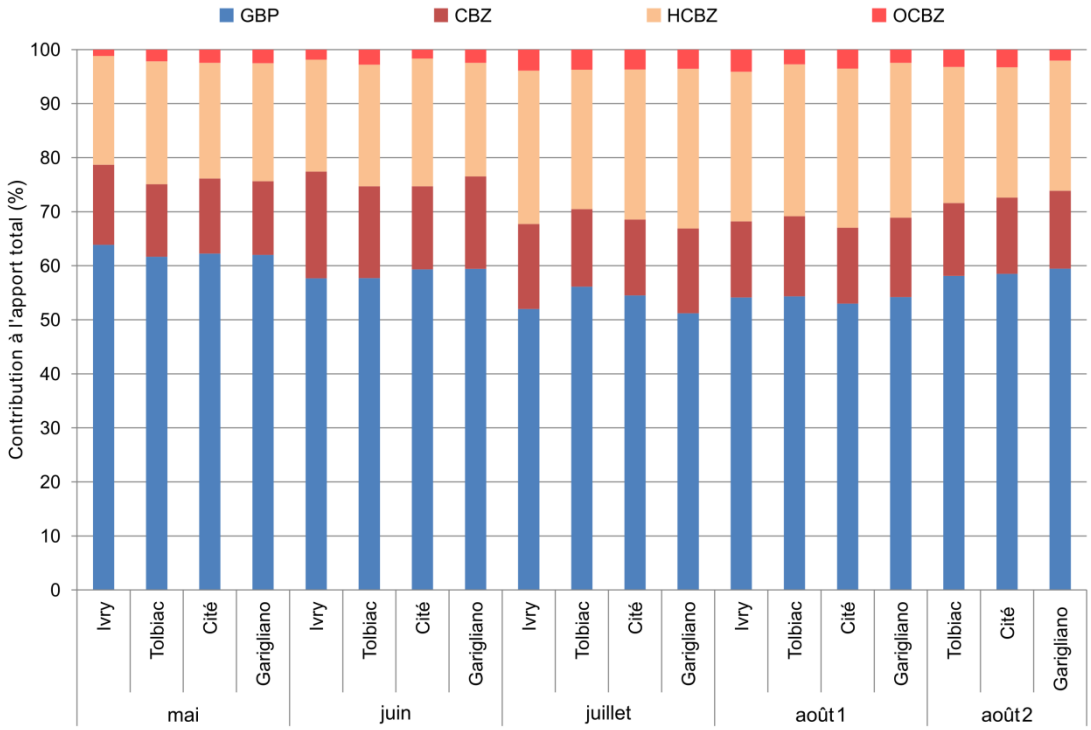


FIGURE 4.18 – Distribution relative de chaque molécule dans l'empreinte totale en antiépileptiques

Comme l'ont mis en évidence les campagnes de mesures précédentes, les molécules antiépileptiques font partie des composés sélectionnés les plus occurrents dans l'environnement. D'un point de vue quantitatif, ils font également partie des plus abondants. Lors de cette étude, la gabapentine a été mesurée à des concentrations comprises entre 20,5 et 122,4 $ng.L^{-1}$ pour une concentration médiane de 70,6 $ng.L^{-1}$. Les concentrations médianes mesurées pour la carbamazépine et son métabolite dihydroxylé étaient respectivement de 20,0 et 35,9 $ng.L^{-1}$. Celle-ci était de 4,1 $ng.L^{-1}$ pour l'oxcarbazépine. Le niveau de contamination médian en carbamazépine dans la Seine lors de cette étude était environ 2 fois supérieur à ceux observés dans les bassins de l'Isle, de la Dordogne et de la Dronne (Idder, 2012). Ces ordres de grandeurs correspondent d'ailleurs également aux observations faites récemment à

l'étranger où des valeurs comprises en 10 et 40 ng.L^{-1} environ sont généralement rapportées (Gros et al., 2012; Klosterhaus et al., 2013; Petrović et al., 2014).

Les phénomènes décrits pour les antiépileptiques ont été observés pour l'ensemble des classes chimiques et thérapeutiques étudiées (ANNEXE 4.4). Pour les autres composés, les seuls profils de concentrations mesurées seront représentés.

4.2.4. Les substances illicites et les anti-Alzheimer

La FIGURE 4.19 présente les profils de contamination dans la Seine pour les principales substances illicites et médicaments anti-Alzheimer caractérisés.

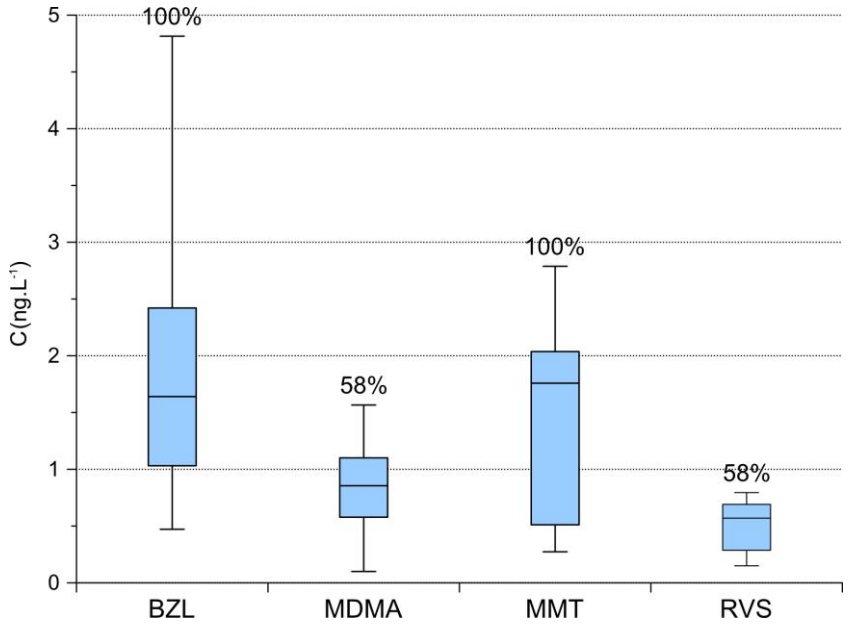


FIGURE 4.19 – Profil de la contamination en substances illicites et en anti-Alzheimer dans la Seine (n=19)

Seules 3 molécules ont été détectées dans la catégorie des substances illicites. La cocaïne a été détectée dans 100% des échantillons mais quantifiée qu'à trois reprises c'est-à-dire dans 16% des cas. Son principal métabolite, la benzoylecgonine a en revanche été mesuré dans la totalité des échantillons analysés à des concentrations allant de 0,5 à 4,8 ng.L^{-1} pour une valeur médiane de 1,6 ng.L^{-1}. La molécule constituante de l'extasy, la MDMA, était quant à elle à la fois moins fréquente et moins abondante. Sa concentration médiane a été déterminée à une valeur de 0,9 ng.L^{-1}. Les données d'occurrence établies ici pour les substances illicites détectées sont comparables à celles rapportées dans les eaux de surfaces helvétiques par Berset *et al.* en 2010. Sur un total de 22 échantillons, des concentrations moyennes de 0,4 et 1,6 ng.L^{-1} avaient alors été observées pour la cocaïne et la benzoylecgonine quantifiées respectivement dans 27 et 78% des cas (Berset et al., 2010). Pour ce type de substances, des niveaux de concentration légèrement supérieurs à ceux observés lors des campagnes de mesure ont été récemment rapportés dans d'autres pays européens (Baker et al., 2013; Valcárcel et al., 2012; Vazquez-Roig et al., 2012).

La moitié des médicaments anti-Alzheimer a été retrouvée dans les échantillons analysés lors de cette campagne. Avec une fréquence de quantification de 100% et

une concentration médiane de 1,8 ng.L^{-1}, la mémantine est la principale contributrice à l'empreinte environnementale de cette classe thérapeutique. La rivastigmine a été mesurée dans 58% des cas à des concentrations ne dépassant pas 0,8 ng.L^{-1}.

4.2.5. Les antidépresseurs

La FIGURE 4.20 rassemble les données d'occurrence pour les différents types d'antidépresseurs principalement caractérisés au cours des campagnes de mesure de cette étude.

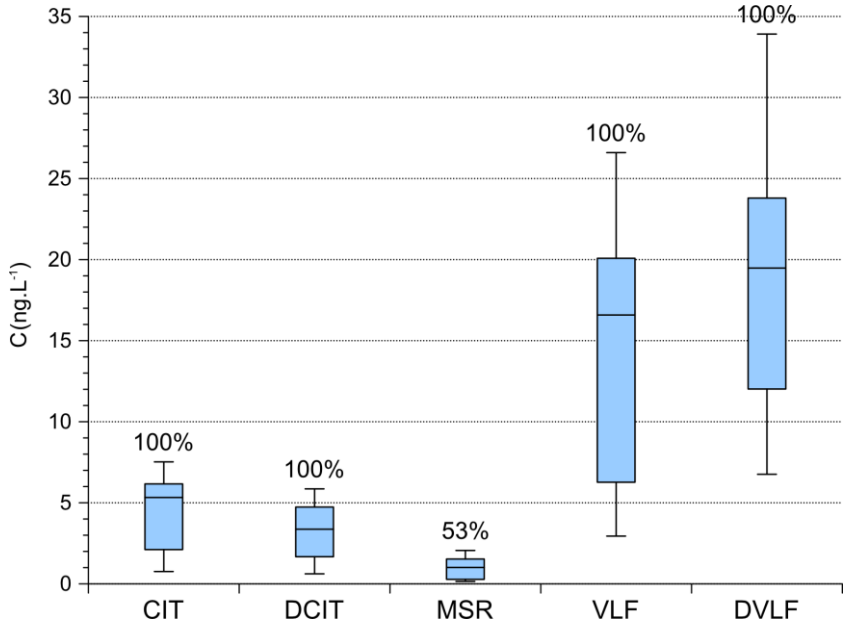


FIGURE 4.20 – Profils de contamination en antidépresseurs dans la Seine (n=19)

Parents et métabolites confondus, 7 antidépresseurs ISRS ont été recherchés et 3 ont été détectés : le citalopram, le desméthylcitalopram et la fluoxétine. Cette dernière a été détectée dans un peu plus de la moitié des échantillons mais son niveau de contamination était inférieur à sa limite de quantification. Les concentrations médianes en citalopram et desméthylcitalopram, tous deux quantifiés dans 100% des cas, étaient de 5,3 et 3,4 ng.L^{-1} respectivement. Le ratio parent/métabolite moyen de 1,3 observé pour ces composés est voisin de celui constaté au cours de la campagne précédente.

Pour les autres types d'antidépresseurs, la venlafaxine et la desmethylvenlafaxine contribuent largement au niveau de contamination totale. Leurs concentrations ont été mesurées entre 2,9 et 26,6 ng.L^{-1} pour le composé parent et entre 6,8 et 33,9 ng.L^{-1} pour le métabolite. La miansérine a, quant à elle, été mesurée dans la moitié des échantillons (53%) à un niveau médian de 1 ng.L^{-1}. Les autres molécules de cette catégorie n'ont, en revanche, pas été détectées.

D'autres études ont fait part d'occurrence de médicaments antidépresseurs dans des eaux de surface. Les concentrations en citalopram et en venlafaxine sont comparables à celles mesurées lors de cette étude (Baker et al., 2013; Gros et al., 2012). Les autres molécules ISRS communément recherchées sont généralement très rarement détectées et/ou quantifiées.

4.2.6. Les benzodiazépines et les molécules apparentées

Les profils de contamination des principales benzodiazépines et molécules associées caractérisées sont présentés en FIGURE 4.21.

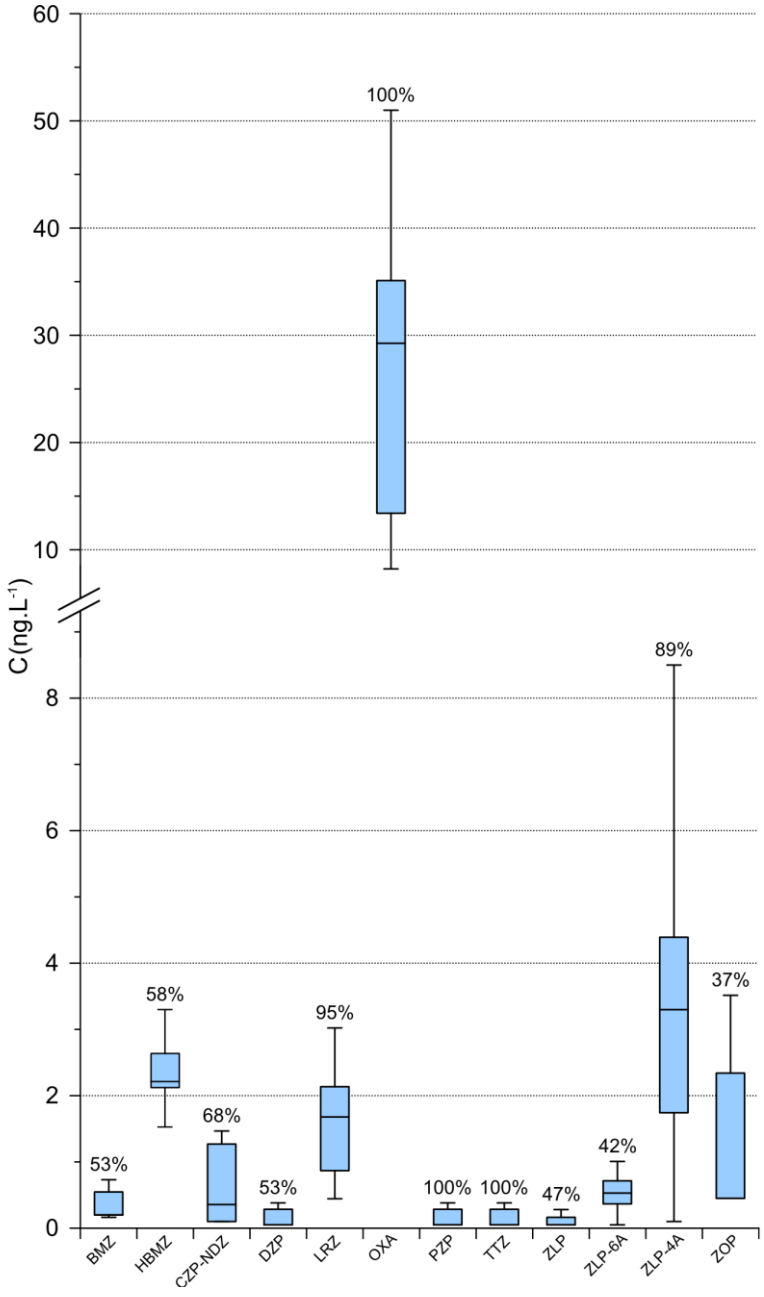


FIGURE 4.21 – Profils des concentrations mesurées (n=19) dans la Seine en benzodiazépines

L'ensemble des benzodiazépines et des *« Z-drugs »* a été détecté au moins une fois au cours des cinq campagnes de mesure à l'exception de clonazépam et du zopiclone-N-oxide. Parmi les molécules ayant été quantifiées, l'oxazépam est la plus abondante. Sa concentration médiane dans les eaux de Seine a été déterminée à 29,3 $ng.L^{-1}$. Au cours de l'étude les valeurs minimales et maximales observées pour ce composé étaient respectivement de 8,2 $ng.L^{-1}$ et de 51,0 $ng.L^{-1}$. Par ailleurs, des concentrations médianes de l'ordre de 20 $ng.L^{-1}$ en oxazépam ont été rapportées dans

deux rivières de Dordogne (Idder, 2012). Ces niveaux de concentration sont élevés par rapport à ceux décrits au Royaume-Uni par Baker *et al.* qui, dans leur étude, ont déterminé des valeurs médianes de 3,7 à 10,3 ng.L^{-1} (Baker et al., 2013). Avec une concentration médiane de 3,3 ng.L^{-1}, l'acide zolpidem 4-phényl carboxylique, est le second composé de la famille des benzodiazépines et des « Z-drugs » en termes d'abondance. Il est suivi par le 3-hydroxybromazépam et le lorazépam dont les concentrations médianes étaient de 2,2 et de 1,7 ng.L^{-1} respectivement. Les autres composés présentaient tous des niveaux de concentration inférieurs à 1 ng.L^{-1}.

4.2.7. Les opiacés et les opioïdes

La présence des principaux opiacés et opioïdes mesurés dans les eaux de surface étudiées est illustrée en FIGURE 4.22.

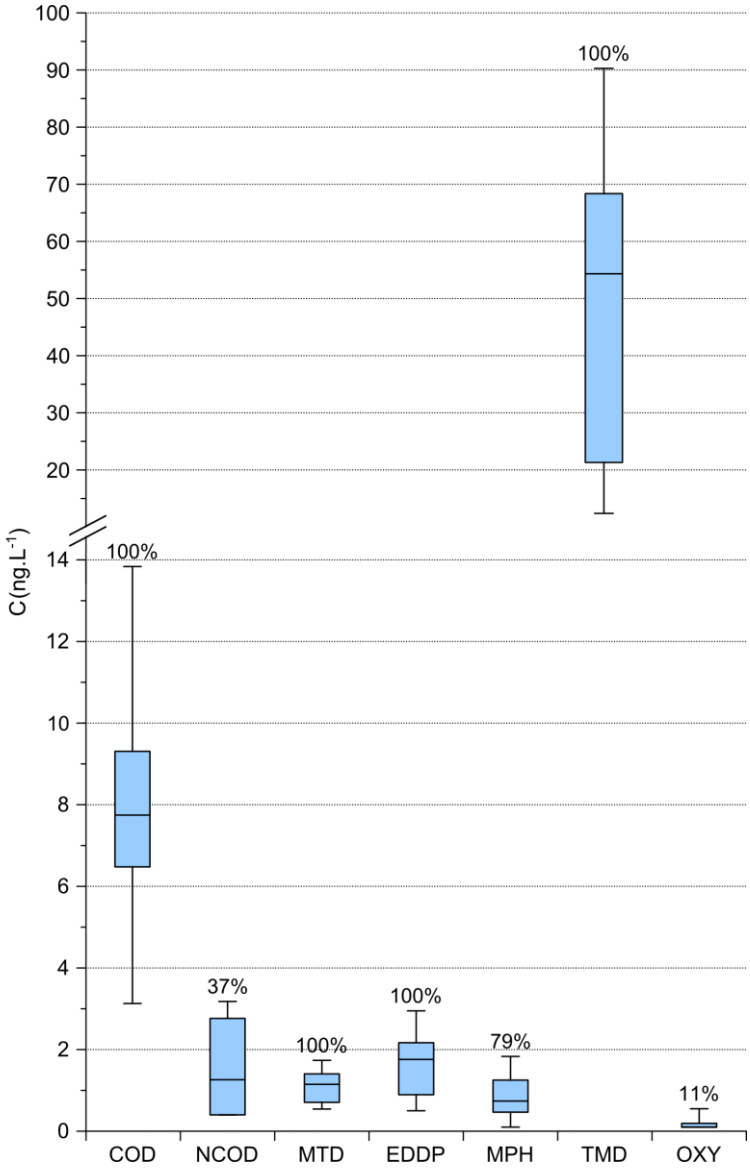


FIGURE 4.22 – Profils de la contamination en opiacés et en opioïdes dans la Seine (n=19)

Le tramadol a une nouvelle fois été identifié comme la molécule contribuant majoritairement au niveau de contamination total des opiacés et opioïdes. Il a été mesuré dans la totalité des échantillons à des concentrations comprises entre 12,4 à 90,3 ng.L^{-1} et à une concentration médiane de 54,3 ng.L^{-1}. Parmi un ensemble de 20 molécules opiacées et opioïdes recherchées dans une rivière au Royaume-Uni, le tramadol a été mesuré, selon les lieux étudiés, à des concentrations médianes de l'ordre de la dizaine à la centaine de ng.L^{-1} (Baker et al., 2013). Analogiquement aux observations des campagnes de mesures précédemment conduites en Seine et en Marne, la codéine est la seconde contributrice à l'empreinte environnementale de cette famille de composés. Sa concentration médiane a été déterminée à 7,7 ng.L^{-1}. Des niveaux de concentrations similaires ont été décrits en Suisse (Berset et al., 2010), en Serbie (Petrović et al., 2014), en Espagne (Gros et al., 2012) et aux Etats-Unis (Klosterhaus et al., 2013) alors que les valeurs rapportées en Grande-Bretagne pour l'étude précédemment citée sont globalement plus importantes avec des concentrations médianes variant de 11,7 à 83,7 ng.L^{-1} (Baker et al., 2013). Parmi les médicaments substitutifs aux opiacés, la méthadone et son métabolite, l'EDDP, ont été quantifiés dans 100% des échantillons à des concentrations médianes respectives de 1,1 et 1,8 ng.L^{-1} respectivement. La buprénorphine n'a quant à elle jamais été détectée.

4.2.8. Les médicaments de consommation courante

La présence des molécules non psychotropes sélectionnées comme médicaments de consommation courante a été confirmée à l'exception du carboxyibuprofène et des conjugués glucuronidés pour lesquels les limites de quantification étaient plus élevées. Dans ce groupe de molécules, le paracétamol est de loin la molécule la plus abondante avec des concentrations pouvant aller jusqu'à 542 ng.L^{-1}. Un niveau médian de contamination de 160,8 ng.L^{-1} a été observé pour cet analgésique, médicament le plus consommé en France. Le diclofénac arrive en seconde position en termes d'abondance parmi molécules non psychotropes sélectionnés. Dans les 19 échantillons analysés, les concentrations mesurées en diclofénac varient entre 7,6 et 59,4 ng.L^{-1} pour une concentration médiane de 27,6 ng.L^{-1}. En terme quantitatif, l'ordre de grandeur et la variabilité des concentrations mesurées pour le paracétamol et les AINS recherchés correspondent aux observations faites par Boleda *et al* lors d'une étude sur une période d'un an dans les eaux de la rivière Llobregat au nord de l'Espagne. Les auteurs ont, par exemple, relevé durant la période hivernale des concentrations en paracétamol comprises entre 129 et 1 289 ng.L^{-1}. Dans ces conditions le diclofénac a été mesuré entre 65 et 208 ng.L^{-1}. Durant l'été, les concentrations étaient respectivement comprises entre 116 et 562 ng.L^{-1} pour le paracétamol et entre <4 et 33 ng.L^{-1} pour le diclofénac (Boleda et al., 2013). En France, ces molécules ont également été détectées dans plus de 70% des échantillons analysés dans le cadre d'un suivi annuel de la contamination de différents cours d'eau dans le département de la Dordogne. Les concentrations médianes de 74, 104 et 170 ng.L^{-1} ont été déterminées pour le paracétamol sur les 3 sites étudiés pour des valeurs maximales de 2 132, 783 et 12 351 ng.L^{-1} (Idder, 2012). Pour le diclofénac, les concentrations médianes étaient de 8, 12 et 10 ng.L^{-1} et les maximales de 15, 53 et 57 ng.L^{-1} (Idder, 2012). Ces niveaux de contamination sont comparables à ceux constatés en Seine au niveau de la ville de Paris. Les résultats issus de la campagne de mesure conduite et des études citées indiquent une importante variation dans les niveaux de contamination de paracétamol.

5. Bilan de la mise en œuvre de la méthode multi-résidus dans l'environnement

5.1. Caractérisation dans les effluents de stations d'épuration

En conclusion, les campagnes de mesures dans les effluents de station d'épuration ont permis :

- de caractériser la présence (fréquence, niveau de concentration, variabilité) de la majorité des composés recherchés.

- d'établir de nouvelles données d'occurrence pour certains composés pas ou peu étudiés

Plus particulièrement, dans leur mise en perspective avec les valeurs rapportées dans la bibliographie, les données d'occurrence établies montrent de manière générale des résultats comparables. Certaines molécules comme le citalopram ou l'oxazépam, ont, dans un contexte national, été mesurées à des concentrations supérieures à celles observées dans d'autre pays.

Il s'agit de la première caractérisation dans ce type de matrice de la classe des anti-Alzheimer dans son ensemble. Seule la mémantine avait été étudiée précédemment. Les études sur cet analyte restent néanmoins rares. D'autres composés peu étudiés ont également été caractérisés comme par exemple les deux métabolites du zolpidem. L'étude de l'occurrence des conjugués glucuronidés a révélé l'absence de la plupart d'entre eux à la suite du traitement d'épuration. De faibles concentrations ont cependant été mesurées pour certains composés.

5.2. Caractérisation dans les eaux de surface

Les différentes campagnes de mesures dans les eaux de surface ont permis :

- de caractériser la présence (fréquence, niveau de concentration, variabilité) de la majorité des composés recherchés dans des cours d'eau de différentes tailles.

- d'établir de nouvelles données d'occurrence pour certains composés pas ou peu étudiés.

Plus particulièrement, l'ensemble des campagnes de mesure a conduit aux premières caractérisations dans les eaux de surface de la mémantine et des métabolites du zolpidem. De plus il s'agit des premières données d'occurrence de substances illicites (cocaïne, benzoylecgonine et MDMA) dans les eaux de surface françaises.

Les résultats obtenus ont permis de dresser une image de la contamination de certains systèmes aquatiques français. Malgré les différences pouvant être constatées selon la topologie des sites d'étude, une analogie a été observée dans l'occurrence individuelle des analytes au sein de leur classe chimique ou thérapeutique.

6. Sélection d'une liste de molécules pour le développement d'une méthode de référence

La mise en œuvre de la méthode multi-résidus dans différentes matrices représentatives du milieu aquatique a permis d'établir des données d'occurrence pour les composés recherchés. Ces résultats, associés à d'autres critères vont permettre de sélectionner une liste restreinte de molécules pour lesquelles une méthode de référence sera développée et validée.

6.1. Démarche de hiérarchisation

Les démarches de hiérarchisation officiellement reconnues, comme par exemple celles proposées par l'Agence Européenne des Médicaments (EMEA) ou l'Agence américaine de Protection de l'Environnement (EPA) sont basées sur l'évaluation de risques (EMEA, 2006; EPA, 1998). Ainsi, le risque environnemental que présente un composé peut se présenter comme le ratio de sa concentration dans le milieu sur la concentration pour laquelle celle-ci ne présentera pas d'effet toxique. Ces concentrations sont souvent déterminées par calcul (« prédiction »). Ainsi, le score de risque est déterminé par le ratio de la PEC (Predicted Environmental Concentration) sur la PNEC (Predicted No Effect Concentration). Dans certaines études, la PEC est remplacée par une valeur mesurée : la MEC (MEC Mesured Environmental Concentration) (Gros et al., 2010; Valcárcel et al., 2011). Cependant ces démarches sont parfois difficiles à mettre en œuvre notamment par manque de données d'écotoxicité chroniques (Besse et al., 2007). De plus, elles ne prennent pas en compte les effets de mélange. Enfin, leur implémentation s'avère chronophage. Aussi, devant l'impossibilité de disposer de données écotoxicologiques permettant de traiter de façon comparable l'ensemble des composés étudiés (PNEC robustes), une alternative pragmatique basée sur les résultats expérimentaux a été adoptée.

La démarche de hiérarchisation développée ici, propose d'attribuer un *« score »* d'occurrence à chacune des molécules étudiées en s'appuyant principalement sur les données expérimentales générées au cours des différentes campagnes de mesure.

Les performances de la méthode multi-résidus développée ont permis de caractériser la majorité des composés recherchés dans l'ensemble des échantillons environnementaux analysés. Le déploiement des POCIS dans l'environnement a permis de mettre en évidence leur pertinence dans la caractérisation des composés recherchés. Néanmoins, cela n'a pas fourni pas d'éléments d'information supplémentaires quant à l'occurrence des composés étudiés. C'est pourquoi, concernant les eaux de surface, seuls les résultats issus des campagnes de mesure par prélèvement ponctuels ont été pris en compte pour le calcul du score de chaque molécule.

Enfin, d'autres facteurs importants ont également été considérés afin de pondérer les scores obtenus. En effet, les aspects liés notamment à la réglementation, au potentiel écotoxique ou encore au besoin de qualité de la donnée ont été pris en compte.

6.2. Calcul du score d'occurrence

Le score d'occurrence de chaque molécule a été déterminé en prenant en compte les résultats issus de chacune des campagnes de mesure selon le type d'eau considéré : rejet de station d'épuration et eau de surface :

$$SCORE_{occurrence}=SCORE_{rejet\ STEP}+SCORE_{eaux\ de\ surface}$$

Les scores des différents milieux ont été calculés en utilisant les fréquences de détection et de quantification ainsi que le niveau de concentration tel que :

$$SCORE_{milieu}=SCORE_{fréquence}+SCORE_{concentration}$$

6.2.1. Calcul du score d'occurrence dans les rejets de station d'épuration

L'ensemble des données brutes issues de l'analyse des échantillons (n=39) dans les effluents des 6 stations d'épuration étudiées a permis d'obtenir le score *« STEP »*. Pour chacune des molécules étudiées, les barèmes suivant ont été attribués :

Score fréquence :

fréquence de détection nulle	0 point
fréquence de détection >0 et fréquence de quantification nulle	0,1 point
0% < fréquence de quantification < 40%	0,25 point
40% < fréquence de quantification < 70%	0,5 point
70% < fréquence de quantification < 90%	0,75 point
fréquence de quantification > 90%	1 point

Score concentration :

concentration médiane = LQ/2	0,1 point
LQ/2 < concentration médiane < 10 $ng.L^{-1}$	0,25 point
10 $ng.L^{-1}$ < concentration médiane < 50 $ng.L^{-1}$	0,5 point
50 $ng.L^{-1}$ < concentration médiane < 500 $ng.L^{-1}$	0,75 point
concentration médiane > 500 $ng.L^{-1}$	1 point

6.2.2. Calcul du score occurrence dans les eaux de surface

Un total de 36 échantillons a été analysé sur l'ensemble des campagnes conduites en Jalle d'Eysines, en Seine et en Marne au niveau des points de captage et en Seine au niveau de la ville de Paris. Les scores *« eau de surface »* ont été calculés sur la base en appliquant les barèmes suivant :

Score fréquence :

fréquence de détection nulle	0 point
fréquence de détection >0 et fréquence de quantification nulle	0,1 point
0% < fréquence de quantification < 40%	0,25 point
40% < fréquence de quantification < 70%	0,5 point
70% < fréquence de quantification < 90%	0,75 point
fréquence de quantification > 90%	1 point

Score concentration :

concentration médiane = LQ/2	0,1point
LQ/2 < concentration médiane < 5 ng.L^{-1}	0,25 point
5 ng.L^{-1} < concentration médiane < 10 ng.L^{-1}	0,5 point
10 ng.L^{-1} < concentration médiane < 50 ng.L^{-1}	0,75 point
concentration médiane > 50 ng.L^{-1}	1 point

6.3. Score rejets de station d'épuration

Les scores d'occurrence dans les eaux de rejets de stations d'épuration ont été calculés pour l'ensemble des composés en additionnant les scores fréquence et concentration comme le présente le TABLEAU 4.2.TABLEAU 4.2

	score fréquence	**score concentration**	**score STEP**
CBZ	1	1	2
COD	1	1	2
DVLF	1	1	2
GBP	1	1	2
HCBZ	1	1	2
HIBU	1	1	2
KTP	1	1	2
MPB	1	1	2
NPX	1	1	2
OXA	1	1	2
TMD	1	1	2
VLF	1	1	2
3-HBMZ	1	0,75	1,75
BZL	1	0,75	1,75
CIT	1	0,75	1,75
DCF	1	0,75	1,75
DCIT	1	0,75	1,75
IBU	1	0,75	1,75
MMT	1	0,75	1,75
MPH	1	0,75	1,75
NCOD	1	0,75	1,75
ZLP-4A	1	0,75	1,75
BMZ	1	0,50	1,50
COC	1	0,50	1,50
CZP-NDZ	1	0,50	1,50
EDDP	1	0,50	1,50
GLT	1	0,50	1,50
LMZ	1	0,50	1,50
LRZ	1	0,50	1,50
MDMA	1	0,50	1,50
MTD	1	0,50	1,50
PAR	1	0,50	1,50
PZP	1	0,50	1,50
TTZ	1	0,50	1,50
ZLP-6A	1	0,50	1,50

TABLEAU 4.2 – Score d'occurrence dans les eaux de stations d'épuration pour l'ensemble des molécules analysées

	score fréquence	score concentration	score STEP
ALP	1	0,25	1,25
DNP	1	0,25	1,25
DZP	1	0,25	1,25
MSR	0,75	0,50	1,25
OCBZ	0,50	0,75	1,25
RVS	1	0,25	1,25
ZLP	1	0,25	1,25
COCE	0,75	0,25	1,00
OXY	0,50	0,50	1,00
COD-glu	0,50	0,25	0,75
DVLF-glu	0,25	0,50	0,75
FLX	0,25	0,50	0,75
MDA	0,50	0,25	0,75
BUP	0,25	0,25	0,50
OXA-glu	0,25	0,25	0,50
SER	0,25	0,25	0,50
TNP	0,25	0,25	0,50
BUP-glu	0	0	0
CIBU	0	0	0
CLZ	0	0	0
IBU-glu	0	0	0
KTP-glu	0	0	0
M3G	0	0	0
M6G	0	0	0
mCPP	0	0	0
MPD	0	0	0
MPRX	0	0	0
NFLX	0	0	0
NPX-glu	0	0	0
PAR-glu	0	0	0
PRX	0	0	0
ZOP	0	0	0
ZOP-N-ox.	0	0	0

TABLEAU 4.2 – Score d'occurrence dans les eaux de stations d'épuration pour l'ensemble des molécules analysées (suite)

16 analytes présentant un score d'occurrence dans les effluents de station d'épuration égal à 0. Parmi eux figurent 7 conjugués glucuronidés. Ces résultats confirment l'importance des phénomènes de déglucuronidation pour les composés étudiés durant le traitement d'épuration même s'ils peuvent être mis en évidence dans certains cas. En effet, l'oxazépam glucuronide, la codeine-6-β-glucuronide et la desméthylvenlafaxine glucuronide ont été caractérisés. Leurs scores respectifs ne dépassent cependant pas 0,75 (sur 2) alors que leurs formes libres font, quant à elles, parties des 12 composés ayant obtenu la note maximale (2 sur 2).

6.4. Eaux de surface

Les scores d'occurrence dans les eaux de surface ont également été sont présentés en TABLEAU 4.3.

	score fréquence	score concentration	score eaux de surface
GBP	1	1	2
PAR	1	1	2
CBZ	1	0,75	1,75
DCF	1	0,75	1,75
DVLF	1	0,75	1,75
HCBZ	1	0,75	1,75
OXA	1	0,75	1,75
TMD	1	0,75	1,75
COD	1	0,50	1,5
IBU	1	0,50	1,5
KTP	1	0,50	1,5
NPX	1	0,50	1,5
VLF	1	0,50	1,5
BZL	1	0,25	1,25
CIT	1	0,25	1,25
DCIT	1	0,25	1,25
EDDP	1	0,25	1,25
MMT	1	0,25	1,25
MTD	1	0,25	1,25
PZP	1	0,25	1,25
TTZ	1	0,25	1,25
CZP-NDZ	0,75	0,25	1
HIBU	0,5	0,50	1
LRZ	0,75	0,25	1
OCBZ	0,75	0,25	1
ZLP-4A	0,75	0,25	1
3-HBMZ	0,5	0,25	0,75
MDMA	0,5	0,25	0,75
MPB	0,5	0,25	0,75
MPH	0,5	0,25	0,75
ZLP-6A	0,5	0,25	0,75
MSR	0,25	0,25	0,5
NCOD	0,25	0,25	0,5
OXY	0,25	0,25	0,5
RVS	0,25	0,25	0,5
BMZ	0,25	0,10	0,35
COC	0,25	0,10	0,35
COD-glu	0,25	0,10	0,35
DVLF-glu	0,1	0,25	0,35
DZP	0,25	0,10	0,35
LMZ	0,25	0,10	0,35
ZLP	0,25	0,10	0,35
ZOP	0,25	0,10	0,35
ALP	0,1	0,10	0,2
COCE	0,1	0,10	0,2
DNP	0,1	0,10	0,2
FLX	0,1	0,10	0,2
MPD	0,1	0,10	0,2
OXA-glu	0,1	0,10	0,2
BUP	0	0	0
BUP-glu	0	0	0
CIBU	0	0	0
CLZ	0	0	0

TABLEAU 4.3 – Score d'occurrence dans les eaux de surface pour l'ensemble des molécules analysées

	score fréquence	score concentration	score eaux de surface
GLT	0	0	0
IBU-glu	0	0	0
KTP-glu	0	0	0
M3G	0	0	0
M6G	0	0	0
mCPP	0	0	0
MDA	0	0	0
MPRX	0	0	0
NFLX	0	0	0
NPX-glu	0	0	0
PAR-glu	0	0	0
PRX	0	0	0
SER	0	0	0
TNP	0	0	0
ZOP-N-ox.	0	0	0

TABLEAU 4.3 – Score d'occurrence dans les eaux de surface pour l'ensemble des molécules analysées (suite)

8 psychotropes figurent parmi les 13 molécules étudiées les plus occurrentes, c'est-à-dire dont le score est supérieur ou égal à 1,5. Dans ce groupe figurent des antiépileptiques, des antidépresseurs, une benzodiazépine, et des opiacés et opioïdes. L'ensemble des médicaments de consommation courante sélectionnés figurent également parmi les molécules les plus occurrentes à l'exception des métabolites de l'ibuprofène et de l'ensemble des conjugués glucuronidés.

6.5. Classement en fonction de l'occurrence dans les différents types d'eaux analysées

Le classement des composés étudiés en fonction de leur occurrence a été obtenu en sommant les scores calculés dans les effluents de station d'épuration et dans les eaux de surface. Le résultat de cette hiérarchisation est présenté en TABLEAU 4.4.

	score STEP	score eaux de surface	score occurrence	rang
GBP	2	2	4	1
CBZ	2	1,75	3,75	2
DVLF	2	1,75	3,75	2
HCBZ	2	1,75	3,75	2
OXA	2	1,75	3,75	2
TMD	2	1,75	3,75	2
COD	2	1,5	3,5	7
DCF	1,75	1,75	3,5	7
KTP	2	1,5	3,5	7
NPX	2	1,5	3,5	7
PAR	1,50	2	3,5	7
VLF	2	1,5	3,5	7
IBU	1,75	1,5	3,25	13
BZL	1,75	1,25	3	14

TABLEAU 4.4 – Hiérarchisation de l'ensemble des molécules analysées selon leur score d'occurrence environnementale

	score STEP	score eaux de surface	score occurrence	rang
CIT	1,75	1,25	3	14
DCIT	1,75	1,25	3	14
HIBU	2	1	3	14
MMT	1,75	1,25	3	14
EDDP	1,50	1,25	2,75	19
MPB	2	0,75	2,75	19
MTD	1,50	1,25	2,75	19
PZP	1,50	1,25	2,75	19
TTZ	1,50	1,25	2,75	19
ZLP-4A	1,75	1	2,75	19
3-HBMZ	1,75	0,75	2,5	25
CZP-NDZ	1,50	1	2,5	25
LRZ	1,50	1	2,5	25
MPH	1,75	0,75	2,5	25
MDMA	1,50	0,75	2,25	29
NCOD	1,75	0,5	2,25	29
OCBZ	1,25	1	2,25	29
ZLP-6A	1,50	0,75	2,25	29
BMZ	1,50	0,35	1,85	33
COC	1,50	0,35	1,85	33
LMZ	1,50	0,35	1,85	33
MSR	1,25	0,5	1,75	34
RVS	1,25	0,5	1,75	34
DZP	1,25	0,35	1,6	38
ZLP	1,25	0,35	1,6	38
GLT	1,50	0	1,5	40
OXY	1,00	0,5	1,5	40
ALP	1,25	0,2	1,45	42
DNP	1,25	0,2	1,45	42
COCE	1,00	0,2	1,2	44
COD-glu	0,75	0,35	1,1	45
DVLF-glu	0,75	0,35	1,1	45
FLX	0,75	0,2	0,95	47
MDA	0,75	0	0,75	48
OXA-glu	0,50	0,2	0,7	49
BUP	0,50	0	0,5	50
SER	0,50	0	0,5	50
TNP	0,50	0	0,5	50
ZOP	0	0,35	0,35	53
MPD	0	0,2	0,2	54
BUP-glu	0	0	0	55
CIBU	0	0	0	55
CLZ	0	0	0	55
IBU-glu	0	0	0	55
KTP-glu	0	0	0	55
M3G	0	0	0	55
M6G	0	0	0	55
mCPP	0	0	0	55
MPRX	0	0	0	55
NFLX	0	0	0	55
NPX-glu	0	0	0	55
PAR-glu	0	0	0	55
PRX	0	0	0	55
ZOP-N-ox.	0	0	0	55

TABLEAU 4.4 – Hiérarchisation de l'ensemble des molécules analysées selon leur score d'occurrence environnementale (suite)

Au total, parmi les 68 analytes, le premier quart présente une occurrence très forte (score final compris entre 3 et 4). Parmi eux, 11 molécules psychotropes ont été dénombrées. Toutes les classes chimiques ou thérapeutiques étudiées y sont représentées :

- 3 molécules antiépileptiques
  - Gabapentine
  - Carbamazépine
  - 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine

- 4 molécules antidépresseurs (2 ISRS et 2 autres)
  - *O*-desméthylvenlafaxine
  - Venlafaxine
  - Citalopram
  - Desméthylcitalopram

- 2 molécules opiacés ou opioïdes
  - Tramadol
  - Codéine

- 1 psycholeptique de type benzodiazépine
  - Oxazépam

- 1 molécule anti-Alzheimer
  - Mémantine

- 1 substance illicite
  - Benzoylecgonine

Les 6 autres molécules ayant obtenu un score final supérieur à 3 appartenaient au groupe des médicaments non psychotropes de consommation courante (kétoprofène, naproxène, ibuprofène, diclofénac et paracétamol).

Une partie représentant 20 % de l'ensemble des composés étudiés affiche des scores totaux compris entre 2 et 3 dénotant une forte occurrence. Toutes ces molécules sont psychotropes.

- 3 molécules opiacés ou opioïdes
  - EDDP
  - Méthadone
  - Morphine
  - Norcodéine

- 5 psycholeptiques de type benzodiazépines
  - Prazépam
  - Tétrazépam
  - 3-hydroxybromazépam
  - Nordazépam (+ clorazépate)
  - Lorazépam

- 2 « *Z-drugs* »
  - Acide zolpidem 4-phényl carboxylique
  - Acide zolpidem 6-carboxylique

- 1 substance illicite
    - MDMA

- 1 molécule antiépileptique
    - Oxcarbazépine

- 1 psycholeptique de type carbamate
    - Méprobamate

Concernant le méprobamate, la contribution principale à son score d'occurrence environnementale provient majoritairement de son score STEP de 2 sur 2. Aussi, la grande majorité des échantillons prélevés dans les effluents sont antérieurs à son retrait du marché en 2012. Il a été mis en évidence ponctuellement et à de faibles concentrations dans les eaux de surface lors des campagnes de mesures réalisées en 2013 (score = 0,75).

Un total de 30% des analytes recherchés présente des occurrences moins importantes avec des scores finaux compris entre 0 et 2. Enfin près de 20 % des composés n'ont jamais été caractérisés dans les échantillons environnementaux analysés. La moitié d'entre eux sont des conjugués glucuronidés.

Le classement établi a permis de hiérarchiser les composés entre eux en fonction des résultats expérimentaux issus des campagnes de mesure. Avant de procéder à la sélection finale. D'autres facteurs ont également été pris en compte afin de « départager » les candidats selon d'autres niveaux d'information.

6.6. Facteurs de pondération

6.6.1. Réglementation

Le premier facteur de pondération ayant été considéré pour le choix d'analytes dans l'objectif d'établir des valeurs de référence dans l'environnement est lié aux exigences réglementaires. Aussi, dans le cadre de la DCE (2000/60/CE), la directive 2008/105/CE du parlement européen et du conseil a fixé des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau (Parlement Européen, Conseil, 2008). Ces normes de qualité s'adressent à une liste de 33 substances prioritaires dans laquelle aucun composé pharmaceutique n'est présent.

Depuis, le mois d'août 2013, la directive 2013/39/UE a été adoptée, modifiant ainsi les précédentes directives et introduisant 12 nouvelles substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau (Parlement Européen, Conseil, 2013). Aucun composé pharmaceutique n'en fait partie mais 3 molécules ont en revanche été ajoutées à la première liste de vigilance en vue d'une possible future inclusion : le 17-bêta-estradiol, le 17-alpha-éthinylestradiol et le diclofénac. En outre, cette liste de vigilance a été créée afin que *« des données de surveillance puissent être recueillies pour faciliter la définition de mesures appropriées visant à lutter contre le risque que représentent ces substances. »* (Parlement Européen, Conseil, 2013)

Le diclofénac est à l'heure actuelle la seule des molécules caractérisées susceptible d'être soumise à une réglementation à court ou moyen terme. Dans ce

contexte, son inclusion dans la liste finale pour le développement d'une méthode de référence apparaît indispensable.

6.6.2. Ecotoxicité

Le second facteur de pondération considéré dans la démarche de hiérarchisation est basé sur l'écotoxicité potentielle des composés analysés. Comme expliqué dans le premier chapitre du manuscrit, l'état actuel des données disponibles permet difficilement d'évaluer le potentiel écotoxique des composés psychotropes dans l'environnement. Plus particulièrement l'impact à long terme sur le biote exposé de ces polluants en mélange à de faibles concentrations reste indéterminé.

Aussi, les données de toxicité chronique rapportées dans les études de toxicologie sont généralement de l'ordre du $\mu g.L^{-1}$ au $mg.L^{-1}$ (Santos et al., 2010) ce qui est nettement supérieur aux concentrations environnementales mesurées. Concernant les antidépresseurs et plus particulièrement les ISRS, les concentrations minimales induisant un effet et les concentrations maximales pour lesquelles aucun effet n'est observé (LOEC et NOEC) peuvent être, selon les organismes considérés, de l'ordre du $ng.L^{-1}$ (Mennigen et al., 2010; Painter et al., 2009; Winder et al., 2009). En effet ces médicaments agissent sur les circuits de la sérotonine qui régule un nombre important de fonctions physiologiques chez les poissons, les mollusques et les protozoaires (Fent et al., 2006). Par conséquent leurs effets sur les organismes aquatiques sont potentiellement importants. Ils peuvent se potentialiser en mélange comme l'ont démontré Painter *et al.* par la mise en évidence du changement du comportement de fuite de certains poissons à des niveaux environnementalement pertinents (Painter et al., 2009). De plus, Brooks *et al*. ont rapporté la présence d'antidépresseurs ISRS dans des tissus de poissons vivant dans un cours d'eau impacté par des rejets d'une station d'épuration démontrant ainsi le potentiel bioaccumulatif de cette famille de composés (Brooks et al., 2005). L'ensemble de ces résultats suggère la nécessité d'établir plus de données concernant l'exposition du biote à cette catégorie de molécules (Daughton et al., 2011).

A l'exception du citalopram et de son métabolite, l'occurrence des autres antidépresseurs ISRS lors des différentes campagnes de mesure était faible (fluoxétine, sertraline) voire nulle (norfluoxétine, paroxétine et son métabolite). Toutefois, les enjeux écotoxicologiques que ces composés représentent justifient leur pertinence dans l'établissement de valeurs de référence. Aussi, c'est pour cette raison que la fluoxétine, malgré un score final d'occurrence de 0,95 sera sélectionnée dans la liste restreinte.

6.6.3. Enjeux de qualité de la donnée

Le besoin de données d'occurrence environnementale a constitué un des autres facteurs de pondération dans le choix de la liste finale. Celui-ci est particulièrement important concernant les substances illicites. A l'étranger, celles-ci ont largement été caractérisées dans l'environnement alors qu'en France peu de données ont été publiées sur ce sujet. Deux études rapportent leur présence dans les effluents de stations d'épuration (Karolak et al., 2010; Nefau et al., 2013) et les résultats de la campagne exceptionnelle dans les eaux souterraines en 2011 indiquent une concentration maximale en cocaïne de 12 $ng.L^{-1}$ (Lopez et al., 2013). Cette valeur est considérablement plus élevée que celles observées lors des campagnes de mesure en eaux de surface où elle était généralement présente en dessous de sa limite de quantification. Il existe aujourd'hui un manque de données dans les eaux de surface

françaises concernant l'occurrence de la cocaïne ainsi qu'une disparité entre les niveaux de contamination mesurés lors des campagnes par rapport à ceux observés dans les eaux souterraines par Lopez *et al.*. De plus, étant donné l'aspect sensible que revêt ce type de composé, l'intégration de la cocaïne à la méthode de référence apparait judicieuse.

6.6.4. Faisabilité Technique

Comme il le sera expliqué dans le chapitre suivant, le principe de la méthode de référence est basé sur la mise en œuvre de la dilution isotopique associée à la spectrométrie de masse. La disponibilité commerciale des analogues marqués aux analytes constitue donc un facteur limitant. Cela fut le cas pour les étalons internes marqués de 4 molécules :

- 3-hydroxybromazépam
- acide zolpidem 6 carboxylique
- l'oxcarbazépine
- 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine

Ces molécules n'ont donc pas été sélectionnées à l'exception de la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine. Celle-ci a tout de même été retenue en raison de l'importance de son occurrence environnementale (*ex aequo* avec 5 autres composés au 2ème rang du classement général). Pour cette molécule, il ne s'agira donc pas d'une méthode primaire de référence mais plutôt d'une méthode à haut niveau métrologique.

6.7. Sélection d'une liste restreinte de composés pour le développement d'une méthode de référence

Le classement établi selon l'occurrence dans les différents milieux aquatiques et l'ensemble des facteurs de pondération décrits dans le paragraphe précédent ont conduit à la sélection d'une liste restreinte de molécules psychotropes pour le développement d'une méthode de référence.

Le TABLEAU 4.5 récapitule la liste des 25 molécules sélectionnées pour le développement de la méthode de référence.

Dans un premier temps, seules les molécules ayant obtenu un score d'occurrence environnementale supérieur à 2 sur 4 ont été considérées. Cela représente environ la moitié (47%) de l'ensemble des composés étudiés.

L'ensemble des 11 molécules psychotropes ayant obtenu un score d'occurrence compris entre 3 et 4 (voir paragraphe 6.5) a été sélectionné en première intention.

Dans le cadre d'une méthode de référence pour la caractérisation de composés psychotropes dans l'environnement, 1 seule molécule non psychotrope a été retenue : le diclofénac. Cette décision a été motivée en grande partie par son appartenance à la première liste de vigilance DCE. De plus, les résultats issus des campagnes de mesure dans les effluents des stations d'épuration (voir FIGURE 4.5 paragraphe 1.2.8) indiquent qu'il s'agit d'un marqueur rémanent. Aussi, comme l'illustre l'ANNEXE 4.6,

les résultats issus des campagnes conduites en Seine montrent que le diclofénac est un meilleur marqueur que le paracétamol.

	score occurrence	facteurs de pondération			
		réglementation	écotoxicité	besoin de données	parent/métabolite
GBP	4	o	o	+	o
TMD	3,75	o	o	+	o
HCBZ	3,75	o	o	+	+
OXA	3,75	o	o	o	+
CBZ	3,75	o	o	o	+
DVLF	3,75	o	+	o	+
VLF	3,5	o	+	o	+
COD	3,5	o	o	o	+
DCF	3,5	+++	o	o	o
CIT	3	o	+	o	+
BZL	3	o	o	++	+
MMT	3	o	o	++	o
ZLP-4A	2,75	o	o	+	+
DCIT	3	o	+	o	+
PZP	2,75	o	o	o	+
EDDP	2,75	o	o	+	+
MTD	2,75	o	o	+	+
TTZ	2,75	o	o	o	+
NDZ	2,5	o	o	o	+
NCOD	2,25	o	o	o	+
COC	1,85	o	o	++	+
MDMA	2,25	o	o	++	o
ZLP	1,6	o	o	o	+
DZP	1,6	o	o	o	+
FLX	0,95	o	+++	o	o

+++ : critère très important
++ : critère important
+ : critère moyennement important
o : critère pas important

TABLEAU 4.5 – Liste des 25 molécules sélectionnées pour le développement d'une méthode de référence

La sélection a été ensuite étendue aux 13 composés psychotropes dont les scores d'occurrence étaient compris entre 2 et 3 (voir paragraphe 6.5). La moitié d'entre eux a été ajoutée à la liste finale. L'acide zolpidem 6-carboxylique, l'oxcarbazépine et le 3-hydroxybromazépam ont été éliminés pour des raisons de faisabilité technique (voir paragraphe 6.6.4). Le méprobamate n'a pas été choisi en raison de l'interdiction de sa vente, son score d'occurrence étant principalement porté par des mesures d'échantillons prélevés avant son retrait d'AMM. Enfin, le lorazépam et la morphine n'ont pas été choisis car le diazépam et la norcodéine leur ont été préférés pour leur plus grande importance dans le chemin métabolique de composés déjà sélectionnés (oxazépam, nordazépam et codéine).

La cocaïne a été sélectionnée en raison de son manque de données d'occurrence en France et l'importance d'établir des données de qualité. De plus la benzoylecgonine, son principal métabolite, a été choisie par ailleurs. La reconstitution du couple parent métabolite a également constitué la raison de l'inclusion du zolpidem à la liste restreinte. Enfin, la fluoxétine a été surclassée et finalement choisie parmi les

candidats au développement d'une méthode de référence en raison de son potentiel écotoxique plus important (voir paragraphe 6.6.2).

Finalement, L'ensemble des autres molécules ayant obtenu un score final d'occurrence inférieur à 2 a été disqualifié.

Chapitre 5

Développement et application d'une méthode de référence pour la caractérisation de composés psychotropes dans l'environnement

1. La métrologie 255
1.1. Définition, organisation, concepts et outils 255
1.2. Exigences réglementaires et normatives 259
1.3. Besoins métrologiques dans le domaine de l'analyse des eaux 260

2. Méthode de référence 262
2.1. Description du processus de mesure 262
2.2. Domaine d'application 263
2.3. Produits chimiques, réactifs 263
2.4. Protocole analytique 265
2.5. Méthode de quantification 268

3. Caractérisation des performances initiales de la méthode 269
3.1. Analyse du modèle d'étalonnage 269
3.2. Détermination des limites de quantification 273
3.3. Taux de récupération et rendements méthode 276
3.4. Exactitude de la méthode 280

4. Evaluation des d'incertitudes 282
4.1. Stratégie 282
4.2. Evaluation de l'incertitude laboratoire 282
4.3. Evaluation de l'incertitude d'échantillonnage milieu 285
4.4. Evaluation de l'incertitude de mesure totale 286

5. Application de la méthode de référence dans l'environnement 287
5.1. Occurrence des composés recherchés sur le site de Tolbiac 287
5.2. Incertitudes échantillonnage 292
5.3. Incertitudes de mesure totale dans les eaux de surface 296

6. Bilan du développement et de la mise en œuvre de la méthode de référence 299

Bibliographie 305

ANNEXE 5.1 – Calcul de l'incertitude-type composée de la concentration en analyte dans l'échantillon .382
ANNEXE 5.2 – Concentrations dans les eaux de la Seine et incertitudes laboratoires associées 384

Ce chapitre présente l'aboutissement des travaux conduits dans le but de développer et de caractériser la première méthode de référence primaire pour l'analyse de 25 molécules psychotropes dans l'environnement. L'application de cette méthode à des échantillons prélevés dans la Seine a permis d'apporter des valeurs de références pour ces composés. De plus, la mise en œuvre de la méthodologie décrite par GUM (GUM - JCGM, 2008) a permis de déterminer les incertitudes associées aux mesures effectuées. Par ailleurs, les incertitudes de mesure environnementales ont été décrites au niveau d'un des sites de prélèvement afin d'y inclure les sources liées à l'échantillonnage et à la variabilité micro-spatiale.

Afin d'alléger les écritures dans la présentation des résultats, des acronymes ont été associés à chacun des analytes étudiés. Ils sont rappelés dans la liste suivante :

HCBZ : 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine

ZLP-4A : acide zolpidem 4-phényl-carboxylique

BZL : benzoylecgonine

CBZ : carbamazépine

CIT : citalopram

COC : cocaïne

COD : codéine

DCIT : desmethylcitalopram

DZP : diazépam

DCF : diclofénac

EDDP : 2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrrolidine

FLX : fluoxétine

GBP : gabapentine

MDMA : 3,4-méthylène-dioxy-N-méthylamphétamine

MMT : mémantine

MTD : méthadone

NCOD : norcodéine

NDZ : nordazépam

DVLF : *O*-desmethylvenlafaxine

OXA : oxazépam

PZP : prazépam

TTZ : tétrazépam

TMD : tramadol

VLF : venlafaxine

ZLP : zolpidem

1. La métrologie

1.1. Définition, organisation, concepts et outils

1.1.1. Définition

La métrologie est une pratique ancestrale, liée aux besoins de l'activité humaine dont témoignent des textes millénaires. En effet, de tout temps et quel que soit la complexité de son cadre social, l'Homme a eu besoin de mesurer (et de comparer) les biens, la nourriture ou les terres. La métrologie se définit comme le rassemblement de *« tous les aspects théoriques et pratiques des mesurages, quels que soient l'incertitude de mesure et le domaine d'application. »* (VIM - JCGM, 2008).

1.1.2. Organisation et rôle des Instituts Nationaux de Métrologie

En 1789, une commission de métrologie a établi les unités de bases utilisées dans le monde entier aujourd'hui : le mètre, le kilogramme et la seconde (Meinrath et al., 2007). Le choix de ces unités a été fondé sur une base conceptuelle fondamentale en métrologie. En effet, à la différence des unités dérivées de la nature (pied, coudée, grain etc…), ces nouvelles références ont été adoptées en raison de leur indépendance par rapport à toute décision subjective.

La volonté de cette commission de coordonner les questions relatives aux unités de mesure se concrétisera quelques années plus tard, en 1875, lorsque 17 pays signeront à Paris la Convention du Mètre et créeront le BIPM (Bureau International des Poids et Mesures). Celui-ci est placé sous l'autorité de la Conférence Générale des Poids et Mesures (CPGM) et la supervision du Comité International des Poids et Mesures (CIPM). Aujourd'hui, sous l'égide du BIPM, les Instituts Nationaux de Métrologie (INM) assurent l'équivalence des unités de base du système international (SI) : le mètre, le kilogramme, la seconde, le kelvin, l'ampère, la candela et la mole. Cette dernière, ajoutée en 1972 est la plus récente dans les unités SI. Elle est placée sous la responsabilité du Comité Consultatif Quantité de Matière (CCQM).

Au niveau d'un état, les INM ont une mission de transfert afin de garantir la traçabilité métrologique d'un résultat de mesure au SI. Les différents INM font partie d'un système reconnaissant leurs capacités mutuelles de mesure. Ce système permet d'établir des degrés d'équivalence entre les étalons nationaux et de reconnaître des certificats d'étalonnage et de mesure émis par un INM. Pour cela les INM doivent établir des systèmes de qualité et de démonstration de leurs compétences et participer à des intercomparaisons internationales avec d'autres INM. En conséquence, leur aptitude dans le domaine concerné est reconnue par le BIPM.

Comme l'illustre la FIGURE 5.1, les INM jouent un rôle déterminant dans la chaîne métrologique dont ils sont le premier maillon de traçabilité au SI. Les INM ont également une fonction de dissémination métrologique vers les utilisateurs et leur apportent un appui technique. Celui-ci est particulièrement nécessaire dans un cadre réglementaire ou normatif.

La double relation traçabilité/dissémination est accompagnée d'un effet multiplicatif sur les incertitudes. Celles-ci sont essentielles dans l'assurance de la comparabilité des résultats. Ainsi, il est possible de faire le lien entre spécifications et

exigences. L'organisation de la métrologie et la reconnaissance mutuelle des INM garantie cette comparabilité à l'échelle internationale.

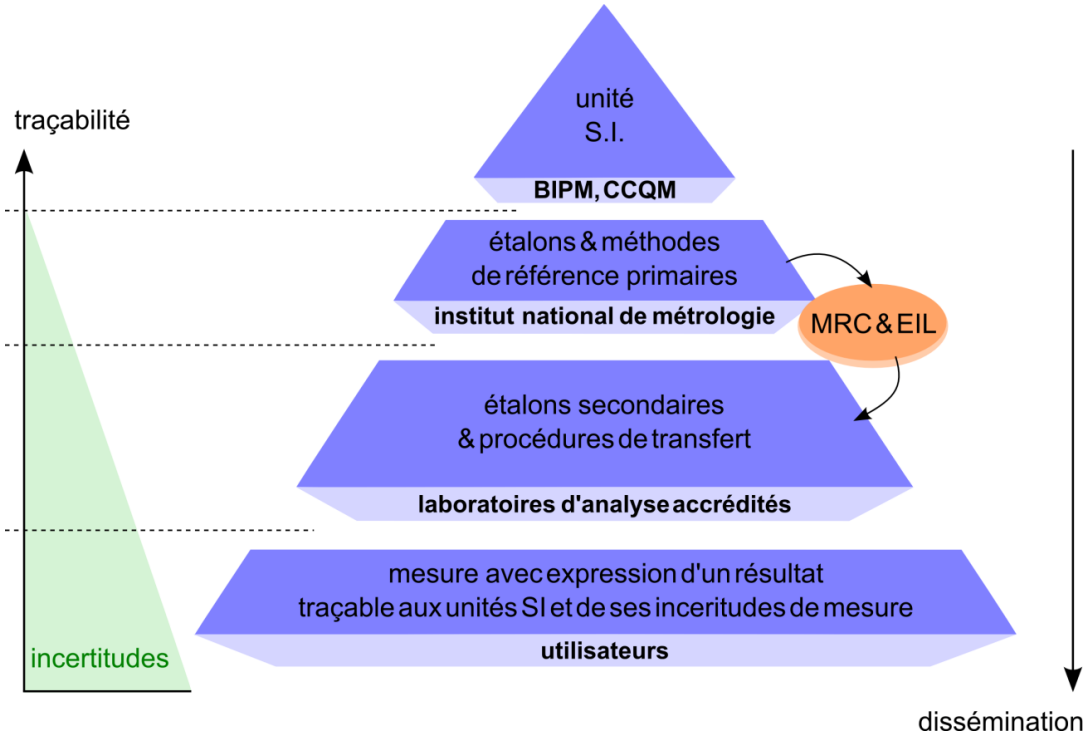


FIGURE 5.1 – Traçabilité métrologique des analyses physico-chimiques

Pour assurer leur mission, les INM s'appuient sur des concepts fondamentaux et disposent d'outils utilisés pour leur mise en œuvre pratique.

1.1.3. Concepts de traçabilité, d'incertitude et d'exactitude

Comme l'illustre la FIGURE 5.2, la qualité des données d'une mesure est assurée par l'association de ces 3 principes fondamentaux :

- la traçabilité métrologique,
- l'exactitude,
- l'incertitude.

La traçabilité métrologique est « la propriété d'un résultat de mesure selon laquelle ce résultat peut être relié à une référence par l'intermédiaire d'une chaîne interrompue et documentée d'étalonnages dont chacun contribue à l'incertitude de mesure » (VIM - JCGM, 2008). De plus, toutes les étapes précédant la mesure à proprement parlé (comme la préparation de l'échantillon par extraction sur SPE) intègrent le processus dans son ensemble. Par conséquent, elles doivent être renseignées dans la caractérisation de la méthode. Enfin, comme il l'est mentionné dans sa définition, la traçabilité métrologique ne peut être complète sans l'expression du résultat avec son incertitude.

FIGURE 5.2 – Enjeux métrologiques pour assurer la qualité de la donnée

L'exactitude de mesure d'une méthode se définie comme *« l'étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et une valeur vraie d'un mesurande »* (VIM - JCGM, 2008). Comme l'illustre la FIGURE 5.3, l'exactitude d'un ensemble de résultats *« implique une combinaison de composantes aléatoires (fidélité) et d'une erreur systématique commune ou d'une composante biais (justesse) »* (NF T90-210, 2009). C'est-à-dire à la fois à l'écart des résultats mesurés par rapport à la valeur de référence (justesse) ainsi qu'à l'écart entre les valeurs mesurées lors de mesures répétées dans des conditions spécifiées (fidélité).

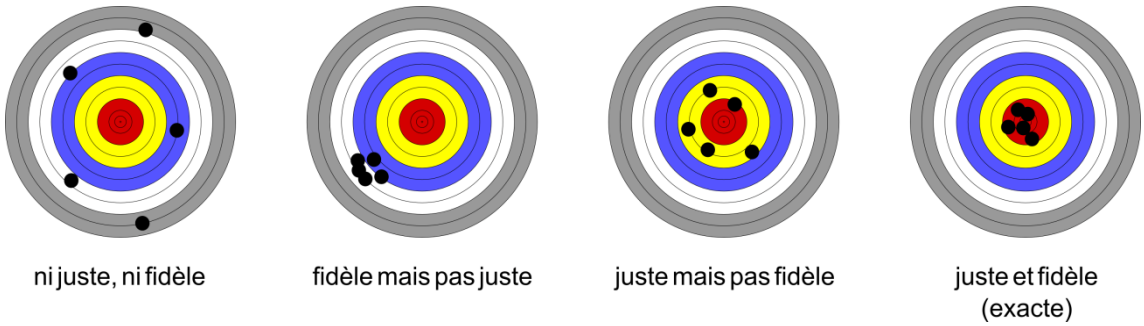


FIGURE 5.3 – Concepts de justesse et de fidélité

L'incertitude de mesure est un « paramètre non négatif qui caractérise la dispersion des valeurs attribuées à un mesurande, à partir des informations utilisées » (VIM - JCGM, 2008). En d'autres termes, cette information traduit le doute, défini généralement dans un intervalle de confiance de 95%, qui caractérise un ensemble de valeurs autour du résultat de mesure. Ainsi, le résultat de mesure n'est pas une valeur unique mais un ensemble de valeurs numériques pas toutes également probables. Cela étant inhérent à la mise en œuvre de tout le processus de mesure, la comparaison de deux résultats dans une échelle spatiale et/ou temporelle n'est donc

possible que si ceux-ci sont accompagnés d'une incertitude. Cela est indispensable pour déclarer une conformité par rapport à une spécification ou encore pour décrire une tendance parmi un jeu de données. Les incertitudes de mesures peuvent être déterminées selon plusieurs approches. Les incertitudes au sein d'un laboratoire peuvent en particulier être caractérisées selon une approche normative décrite dans le GUM (Guide to the expression of Uncertainty in Measurement) (GUM - JCGM, 2008). Celle-ci s'appuie sur la modélisation mathématique du processus de mesure incluant toutes les sources potentielles d'influence sur le résultat. De façon alternative, les laboratoires peuvent également répéter les mesures dans le temps et créer une carte de contrôle afin d'estimer la reproductibilité du processus de mesure (ISO 11352, 2012). Enfin, les essais inter-laboratoires permettent une évaluation externe des incertitudes de mesure.

L'association des ces trois concepts est nécessaire à l'établissement de données quantitatives de qualité. Il existe plusieurs outils pour répondre à ces enjeux et permettre la dissémination métrologique vers les utilisateurs.

1.1.4. Matériaux de référence certifiés, méthodes de référence primaires et essais inter-laboratoires

Un matériau de référence certifié (MRC) est un *« matériau de référence, accompagné d'une documentation délivrée par un organisme faisant autorité et fournissant une ou plusieurs valeurs de propriétés spécifiées avec les incertitudes et les traçabilités associées, en utilisant des procédures valables »* (VIM - JCGM, 2008). La caractérisation d'un tel matériau, nécessite *« une procédure métrologiquement valide pour une ou plusieurs propriétés spécifiées »* (ISO/CEI 17025, 2005). Les MRC sont donc des outils quasi-indispensables dans la validation de méthodes. Ils peuvent être de type étalon ou matriciel.

En chimie, l'utilisation de MRC étalons peut servir à l'étalonnage des appareils de mesure afin d'assurer la relation avec le SI. Les MRC en matrice servent quant à eux à évaluer la justesse d'une méthode. Pour caractériser les MRC, qu'ils soient étalons ou à matrice, les INM développent des méthodes de mesure dites « méthodes de référence primaires ».

Le CCQM définit une méthode de mesure primaire comme « une méthode possédant les plus hautes qualités métrologiques, dont la mise pratique est parfaitement décrite et comprise en unité SI », dont l'emploi permet de mesurer la valeur d'une grandeur inconnue ou d'un rapport entre deux valeurs d'une même grandeur « en dehors de toute référence à un étalon de la même grandeur». La définition précise également que « dans les deux cas, les résultats doivent être accompagnés d'un bilan complet d'incertitude » (BIPM, 1999). Ainsi la dilution isotopique associée à la spectrométrie de masse remplie des conditions pour être considérée comme une méthode de mesure primaire.

Lorsqu'il n'existe pas de MRC approprié aux besoins d'une mesure, la validation de la méthode passe alors par une comparaison entre les laboratoires : les essais inter-laboratoires (EIL). Ainsi Les EIL avec attribution d'une valeur de référence comme valeur assignée permettent d'estimer l'exactitude d'une méthode de mesure utilisée par un laboratoire ou d'évaluer son aptitude à réaliser cette mesure. Une valeur de référence est attribuée par la mise en œuvre d'une méthode primaire de référence. Le développement d'une telle méthode est alors un prérequis à l'établissement de données de qualité comparables et traçables au SI.

Ce besoin est présent dans le domaine de l'analyse des eaux dans le but de répondre aux exigences règlementaires fixées.

1.2. Exigences réglementaires et normatives

1.2.1. La directive Loi Cadre sur l'Eau (DCE)

Via la Directive-Loi-Cadre sur l'Eau (Directive 2000/60/CE) du 23 octobre 2000, l'Union Européenne impose aux états membres à agir dans le sens de la protection de l'hydrosphère. Les objectifs de la DCE sont la restauration à un bon état écologique et chimique des eaux superficielles, souterraines et côtières d'ici à 2015 et ce sur l'ensemble du territoire européen (Parlement Européen, Conseil, 2000). Pour répondre à ces exigences, la directive prévoit plusieurs axes de travail en commençant par un état des lieux préliminaire se poursuivant par l'établissement d'un plan de gestion ainsi que l'application de programmes de mesure et de surveillance.

Dans ce cadre réglementaire, il existe donc un besoin de méthodes d'analyse précises, fiables et comparables. Les laboratoires concernés doivent en outre répondre à certaines exigences prévues par la directive européenne QA/QC.

1.2.2. La directive QA/QC

La directive européenne dite QA/QC (2009/90/CE) du 31 juillet 2009 établit des spécifications techniques pour l'analyse chimique et la surveillance de l'état des eaux conformément à la DCE (Commission Européenne, 2009). La directive QA/QC a pour objectif principal de garantir la qualité et la comparabilité des résultats afin de permettre l'évaluation des masses d'eaux. Dans ce but, elle prévoit notamment des critères de performances minimales des méthodes d'analyse et une définition commune de la limite de quantification. La directive exige par exemple une incertitude de mesure élargie (k=2) inférieure ou égale à 50% et une limite de quantification inférieure ou égale de 30% par rapport aux valeurs de qualité environnementale requise. En absence de norme de qualité environnementale ou de méthode répondant aux exigences, les analyses doivent être conduites à l'aide des meilleures techniques disponibles. Enfin la directive QA/QC impose aux laboratoires de se conformer aux exigences de qualité définie par la norme ISO/CEI 17025.

1.2.3. La norme ISO/CEI 17025

La norme ISO/CEI 17025 définit les exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais (ISO/CEI 17025, 2005). Ainsi l'accréditation selon le référentiel ISO/CEI 17025 d'un laboratoire d'analyse constitue la reconnaissance de son bon fonctionnement, de sa compétence et de sa fiabilité. Cette accréditation est accordée en France, par le Cofrac (Comité français de l'accréditation) pour une durée de 5 ans pour un domaine de compétence donné lié à une utilisation spécifique. De plus, certains laboratoires sont également accrédités en « portée flexible » c'est-à-dire qu'il leur est possible d'accréditer en interne des paramètres nouveaux dans un domaine précis pour lequel ses compétences ont été reconnues, comme par exemple l'ajout de nouveaux analytes pour lesquels une méthode n'avait pas été préalablement validée. Dans ce cas, il faut toutefois que *« les méthodes adaptées/développées soient validées par le laboratoire avant emploi et que leurs caractéristiques restent dans les champs de possibilités répertoriés dans la portée*

d'accréditation » (Cofrac, 2011). Les accréditations en portée flexible permettent donc une plus grande réactivité par rapport aux besoins.

De manière à assurer la qualité des résultats, la norme ISO/CEI 17025 spécifie que le laboratoire doit recenser les sources potentielles d'incertitudes et en faire une estimation « raisonnable » afin de fournir au client (si celui-ci le demande) ou si le résultat doit être comparé à une valeur seuil réglementaire. De plus, la norme stipule que le laboratoire doit également disposer d'outils de surveillance de la qualité des données analytiques comme l'utilisation régulière de matériaux de références certifiés et la participation à des programmes de comparaisons entre laboratoires ou à des essais d'aptitude (ISO/CEI 17025, 2005).

1.3. Besoins métrologiques dans le domaine de l'analyse des eaux

Dans le domaine de l'analyse de l'eau et en particulier pour les résidus pharmaceutiques dans l'eau, il n'existe aucun MRC à matrice. Ceci s'explique par la difficulté à garantir la stabilité des composés à laquelle s'ajoutent des difficultés liées au stockage des échantillons (de l'ordre du litre) dans des conditions d'application des méthodes. De plus, les MRC étalons traçables au SI, c'est-à-dire dont les impuretés de toute nature ont été caractérisées par des techniques analytiques appropriées, sont rares (Fisicaro et al., 2012). A notre connaissance, il n'en existe pas pour les composés étudiés.

Dans ce contexte, les EIL ont pour objectifs de vérifier à un instant donné, et ce de manière régulière, les aptitudes analytiques des laboratoires de la profession pour la détermination de la concentration de certains analytes dans les eaux. Seulement deux EIL ont été conduits à ce jour sur les résidus médicamenteux dans les eaux. Le premier, organisé par l'ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail) a eu lieu en 2009 dans les eaux à destination de la consommation humaine et le second a été organisé par le consortium AQUAREF en 2011 sur des eaux souterraines.

31 laboratoires ont participés à l'EIL dans les eaux destinées à la consommation humaine pour la quantification de 12 composés pharmaceutiques dont notamment le diclofénac et la carbamazépine. L'incertitude inter-laboratoires, déterminée à partir des coefficients de variation était comprise entre 47 et 67% pour le diclofénac et 59 et 103% pour la carbamazépine. Seulement 6% des données présentaient une incertitude inter-laboratoires inférieure à 50%. L'organisateur de l'essai explique les résultats obtenus par une différence d'état d'avancement des laboratoires par rapport aux méthodes utilisées et par l'absence de guide sur le dosage des produits pharmaceutiques dans l'eau (Py et al., 2010).

Concernant l'EIL dans les eaux souterraines, 30 laboratoires ont quantifié 11 molécules différentes dont le diclofénac, la carbamazépine et l'oxazépam. Les coefficients de variations constatés dans les échantillons naturels étaient de l'ordre de 20% pour le niveau de concentration de 100 $ng.L^{-1}$ et de l'ordre de 25% pour le niveau de concentration de 25 $ng.L^{-1}$. Les organisateurs de l'essai ont donc constaté une amélioration des performances par rapport à l'EIL cité précédemment. Ils soulignent toutefois la difficulté d'envisager la capacité de mesurer ces polluants à des faibles concentrations ($<10ng.L^{-1}$) à l'échelle interlaboratoires (Amalric et al., 2012).

Les EIL menés ont mis en évidence une nécessité d'harmoniser les pratiques analytiques entre les laboratoires afin de tendre vers de meilleures performances et à les maintenir à des niveaux de concentration pertinents dans les échantillons environnementaux. Cela est d'autant plus important dans le cadre des campagnes de mesures des programmes de surveillance DCE. Dans ce contexte, il est essentiel que les méthodes utilisées soient adaptées aux objectifs fixés. Il existe donc un grand besoin d'améliorer la qualité des données en établissant notamment la traçabilité métrologique des mesures.

En l'absence de MRC à matrice, l'existence de méthode(s) de référence primaire pour la mesure de composés émergents dans l'environnement permettrait d'œuvrer vers l'établissement d'un cadre métrologique dans ce domaine. Dans l'optique de futurs EIL, une telle méthode pourrait, pour la première fois, fixer des valeurs de référence associées à des incertitudes de mesure définie selon le GUM. Cette démarche s'inscrit dans un rôle de dissémination métrologique visant à améliorer la qualité des résultats de mesure. Une caractérisation plus fiable des polluants émergents dans le système aquatique aurait pour conséquence d'établir plus clairement le lien entre pressions et impacts sur le milieu afin de répondre à la question de leur devenir environnemental.

2. Méthode de référence

2.1. Description du processus de mesure

Le principe de la méthode repose sur la mise en œuvre de la dilution isotopique pour l'extraction et la concentration d'un échantillon environnemental par SPE puis son analyse par UPLC-MS². La FIGURE 5.4 représente schématiquement l'ensemble de ce processus en trois grandes étapes.

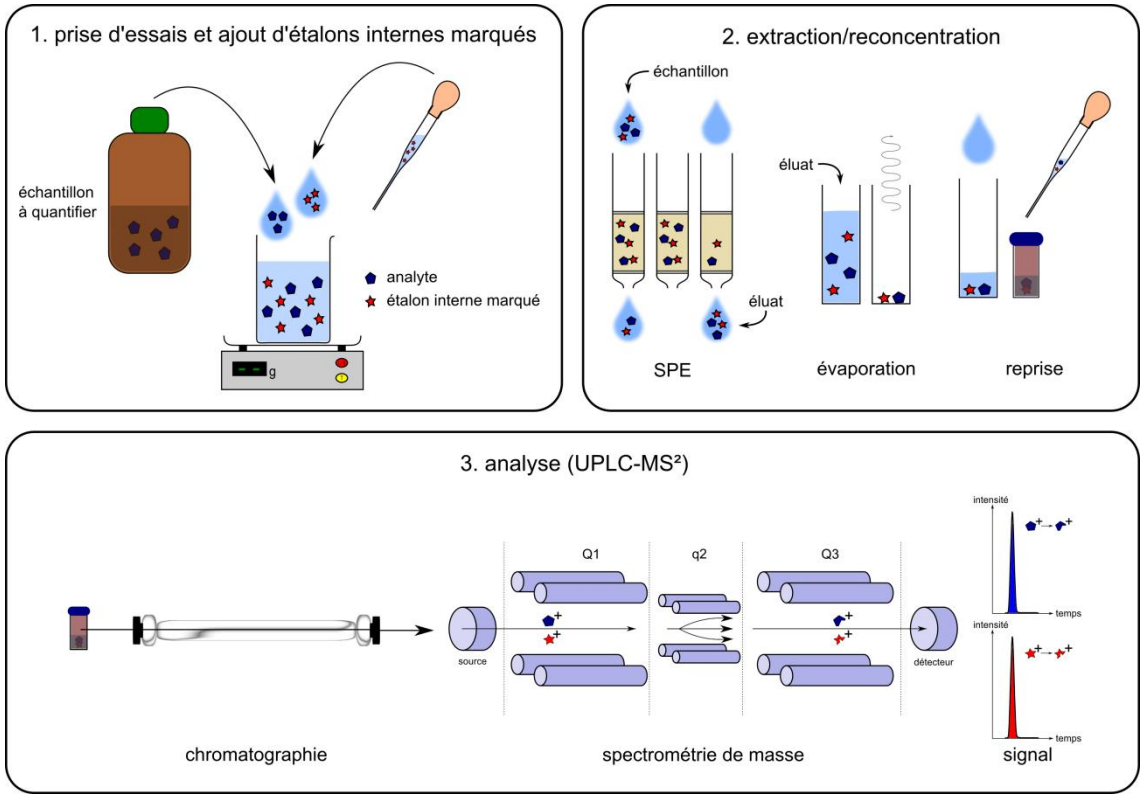


FIGURE 5.4 – Principe de la dilution isotopique associée à l'extraction sur phase solide et à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (DI-SPE-LC-MS/MS)

Comme expliqué précédemment, la dilution isotopique (DI) est reconnue comme méthode primaire par la CCQM. La DI consiste en l'ajout d'une quantité connue d'un analogue marqué du composé à analyser dans l'échantillon c'est-à-dire en substituant un ou plusieurs atomes par un isotope stable (H par ^{2}H, ^{12}C par ^{13}C, ^{14}N par ^{15}N ou ^{16}O par ^{18}O). Ainsi toute perte subie par l'analyte en question durant les différentes étapes de l'analyse sera compensée par une perte en étalon interne proportionnellement équivalente. Les deux composés sont chimiquement identiques et ne se distinguent que par leurs masses. Leur détection différenciée est donc possible et la quantification du rapport des signaux obtenus permet d'accéder à la quantité en analyte connaissant la quantité d'étalon interne initialement introduite.

La première étape consiste en une prise d'essai par gravimétrie, de l'échantillon à quantifier ainsi qu'en un ajout d'étalons internes. Celle-ci permet de connaître précisément la quantité Q* d'étalon interne dans l'échantillon.

La seconde étape de la méthode permet d'extraire et de concentrer les analytes recherchés dans l'échantillon afin d'atteindre une concentration autorisant leur quantification.

Enfin, l'analyse par UPLC-MS² constitue la troisième étape de la méthode. Après leur séparation par chromatographie liquide, les composés pénètrent dans la source simultanément à leurs analogues marqués. En sortie du dernier quadripôle, les ions fils sont détectés simultanément et il est alors possible d'obtenir les signaux MRM de l'analyte et de son homologue marqué dont les intégrations fournissent respectivement les aires A et A*.

La quantité de matière Q en analyte dans l'échantillon est alors déduite à partir de A, A* et Q* à partir d'un modèle d'étalonnage préalablement défini reposant sur la relation entre les rapports d'aire et de concentration selon une fonction supposée affine :

$$f : x \to y$$
$$x \mapsto y = f(x) = b_1 x + b_0$$

avec $y = \frac{Q}{Q*}$ le rapport de la quantité d'analyte sur celle d'étalon interne marqué

$x = \frac{A}{A*}$ le rapport de l'aire d'analyte sur celle d'étalon interne marqué

b_1, b_0 constantes

2.2. Domaine d'application

Cette méthode s'applique aux 25 molécules citées en préambule de ce chapitre dans le but de les quantifier à l'état de traces (du ng à la centaine de ng par litre) voire ultra-traces (sub-ng par litre) dans la fraction dissoute d'eaux de surface. La méthode a été développée, caractérisée, validée et appliquée avec des critères métrologiques stricts avec contrôle gravimétrique à chaque étape.

2.3. Produits chimiques, réactifs

L'ensemble des 25 composés sélectionnés et des 24 étalons internes marqués utilisés a été acheté sous forme d'étalons poudre ou en solution dans le méthanol (1 $mg.mL^{-1}$). Les fournisseurs, numéros CAS, propriétés physico-chimiques (pKa, log K_{ow}) et puretés pour l'ensemble de ces références sont présentés en TABLEAU 5.1. L'acétonitrile (HPLC grade) et le méthanol (LC-MS grade) de marque Baker® proviennent d'Atlantic Labo ICS (Bruges, France). L'eau utilisée pour la phase mobile et la constitution des solutions étalons, des points de contrôle et des blancs de procédure a été obtenue grâce à un système de purification Milli-Q (Millipore, Molsheim, France). De l'eau d'Evian® a été utilisée comme eau de référence pour la constitution des échantillons dopés pour le développement, la caractérisation et la validation de la méthode. Les autres produits chimiques nécessaires à l'application de la méthode comprennent de l'acide acétique (AnalaR Normapur® pureté 100%), de l'acide formique (AnalaR Normapur® pureté > 99%), de l'EDTA dissodique (solution 3,7% v/v Merck® pureté > 99,998%), du thiosulfate de sodium-$(H_2O)_5$ (AnalaR Normapur® pureté > 99,5%) ainsi de l'hydroxyde d'ammonium (ACS reagent® 28-30%

base NH_3). Toutes ces références ont été fournies par VWR (Fontenay-sous-Bois, France) et de Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).

référence de l'étalon	# CAS	pKa[a]	log P[a]	pureté (%)	fournisseur
10,11-dihydro-10,11-dihydroxy-carbamazépine	58955-93-4	12,7	0,71	97,5	LGC Standards
acide zolpidem 4-phenyl-carboxylique	109461-65-6	3,4-6,3	2,63	98	LGC Standards
acide zolpidem 4-phenyl carboxylique-D6	ND			98,2	Alsachim
benzoyecgonine.$(H_2O)_4$	5928-96-1	2,9-9,2	2,03	98	LGC Standards
benzoylecgonine-D8 solution/MeOH (1mg.mL-1)	ND			99,8	LGC Standards
carbamazépine	298-46-4	14,3	2,17	99,5	Dr. Ehrenstorfer GmbH
carbamazépine-D8	ND			>99	Alsachim
citalopram.HBr	59729-32-7	9,4	3,72	99,874	Lipomed
citalopram-D6.C2H2O4	1246819-94-2			>99	Alsachim
cocaïne	50-36-2	8,6	2,64	99	Sigma Aldrich
cocaïne-D5.HCl	259526-49-3			97	Alsachim
codéine.HCl	1422-07-7	8,2	1,22	99,62	Lipomed
codéine-D3.HCl	70420-71-2			99,215	Lipomed
desméthylcitalopram.HCl	144025-14-9	10,5	3,32	98	LGC Standards
desméthylcitalopram-13C-D3.C2H2O4	ND			>99	Alsachim
diazépam	439-14-5	3,4	3,11	99,98	Lipomed
diazépam-D5	65854-76-4			99,92	Lipomed
diclofénac.Na	15307-79-6	4,4	4,61	98	Dr. Ehrenstorfer GmbH
diclofénac-D4	153466-65-0			>99	Cluzeau Info Labo
EDDP.ClO_4	66729-78-0	8,8	5,01	99,825	Lipomed
EDDP-D3.ClO_4	136765-23-6			98,1	LGC Standards
fluoxétine.HCl	59333-67-4	9,6	4,35	98	LGC Standards
fluoxétine-D6.HCl	ND			99,36	Lipomed
gabapentine	60142-96-3	3,8-10,4	-1,3	98	LGC Standards
gabapentine-D4	1185039-20-6			98,5	CDN isotopes
MDMA.HCl	64057-70-1	9,9	1,99	98,6	Sigma Aldrich
MDMA-D5.HCl	136765-43-0			99,838	Lipomed
mémantine.HCl	41100-52-1	10,5	3,56	98	LGC Standards
mémantine-13C-D6.HCl	ND			>99	Alsachim
méthadone.HCl	1095-90-5	8,7	4,53	99,989	Lipomed
méthadone-D9.HCl	ND			99,209	Lipomed
miansérine.HCl	21535-47-7	8,3	3,57	98	LGC Standards
miansérine-D3	81957-76-8			99,28	LGC
norcodéine	467-15-2	9,1	0,87	>89	LGC Standards
norcodéine-D3 solution/MeOH (1 mg.mL-1)	ND			99,3	Sigma Aldrich
nordazépam	1088-11-5	3,4-11,3	2,89	>99	Sigma Aldrich
nordazépam-D5	65891-80-7			99,471	Lipomed
O-desmethylvenlafaxine	93413-62-8	8,4-10,1	2,93	97	LGC Standards
O-desmethylvenlafaxine-D6	ND			98	LGC Standards
oxazépam	604-75-1	1,8-11,5	2,01	99,865	Lipomed
oxazépam-D5	65854-78-6			99,975	Lipomed
prazépam	2955-38-6	3,4	3,49	99,922	Lipomed
prazépam-D5	ND			>99	CDN isotopes
tétrazépam	10379-14-3	3,8	3,5	99,15	Lipomed
tétrazépam-13C-D3	ND			98,1	Alsachim
tramadol.HCl	22204-88-2	9,2	2,55	98	LGC Standards
tramadol-D6.HCl	1109217-84-6			98,8	Alsachim
venlafaxine.HCl	99300-78-4	8,4	3,33	99,79	Lipomed
venlafaxine-D6.HCl	ND			99,798	Lipomed
zolpidem	82626-48-0	6,1	3,14	98	LGC Standards
zolpidem-D6	ND			98	LGC Standards

[a] : calculé avec ACD/Percepta 14.0.0, Advanced Chemistry Development Inc. (www.acdlabs.com) – ND : Non Disponible

TABLEAU 5.1 – Noms, CAS, puretés, fournisseurs et informations complémentaires sur les étalons analytiques utilisés

2.4. Protocole analytique

2.4.1. Préparation des solutions étalons marqués et non marqués

Une solution mère de chaque étalon marqué et non marqué a été préparée gravimétriquement sur une balance de portée 20 g avec une résolution de 0,001 mg par la mise en solution d'une quantité de composé (supérieure à 5 mg si possible) dans le méthanol afin d'obtenir une solution étalon à 1 $mg.g^{-1}$ environ.

Une solution mélange de tous les étalons non marqués dans le méthanol a été préparée gravimétriquement sur une balance de portée 200 g avec une résolution de 0,01 mg à partir des solutions mères afin d'atteindre une concentration d'environ 10 $\mu g.g^{-1}$ pour chaque composé.

De la même façon, une solution mélange de tous les étalons marqués dans le méthanol à une concentration d'environ 10 $\mu g.g^{-1}$ a été préparée.

Enfin, une solution de travail contenant l'ensemble des étalons marqués et non marqués dans le méthanol à environ 500 $ng.g^{-1}$ a été préparée gravimétriquement sur une balance de portée 200 g avec une résolution de 0,01 mg avec les deux solutions mélanges décrites plus haut.

Pour les besoins spécifiques liés à la préparation de la gamme d'étalonnage et de la solution de dopage des échantillons, les solutions mélanges à 10 $\mu g.g^{-1}$ de composés marqués ou non marqués ont été diluées afin d'atteindre des prises d'essai suffisantes dont la maîtrise est assurée. Chaque dilution a été effectuée sous contrôle gravimétrique sur une balance de portée 200 g avec une résolution de 0,01 mg. Chaque étape de dilution a été prise en compte dans le budget d'incertitude.

Toutes ces solutions ont été conservées au congélateur à -20 ± 2 °C.

2.4.2. Préparation de la gamme d'étalonnage, des points de contrôle et des blancs de procédure

13 solutions sont préparées dans un mélange eau MilliQ – méthanol (90-10 v/v) à des concentrations en analytes variant de 0,06 $ng.g^{-1}$ à 340 $ng.g^{-1}$ et en étalons internes marqués constantes à environ 30 $ng.g^{-1}$. Le TABLEAU 5.2 reporte les valeurs cibles de préparation des 13 points de gamme.

point de gamme	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13
$C_{analyte}$ ($ng.g^{-1}$)	300	125	70	30	15	10	5	2,5	1	0,5	0,3	0,1	0,05
C_{EI} ($ng.g^{-1}$)	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

TABLEAU 5.2 – Concentrations cibles des points de gamme en analytes et en étalons internes

Des points de contrôle équiconcentration en analytes et étalons interne à 50 $ng.g^{-1}$ dans un mélange eau MilliQ – méthanol (90-10 v/v) sont également préparés afin de vérifier les performances du système analytique avant et pendant tout le temps de l'analyse. De plus, des blancs de procédure (eau MilliQ – méthanol (90-10 v/v) sont réalisés avant toute injection.

Chacune de ces solutions (point de gamme et de contrôle) est réalisée sous contrôle gravimétrique sur une balance de portée 20 g avec une résolution de 0,001 mg le jour de l'analyse. Des solutions fraîches sont préparées à chaque nouvelle série d'analyses.

2.4.3. Préparation de l'échantillon et extraction par SPE

Tous les échantillons sont filtrés sous vide à travers un filtre Whatman® 0,7µm type F en fibre de verre (Fisher Bioblock Scientific, Illkirch, France) et sont contenus dans des bouteilles en verre ambré préalablement calcinées.

La prise d'essai et l'ajout d'étalon interne sont réalisés sous contrôle gravimétrique sur une balance de portée 2 kg et de résolution 1 mg. Chaque pesée est répétée trois fois en commençant par le flacon vide puis le flacon contenant la prise d'essais de l'échantillon à quantifier, et en terminant l'ajout des étalons internes marqués. A ce stade, 50 $mg.L^{-1}$ de thiosulfate de sodium et 0,05% d'EDTA (v/v) sont ajoutés par volumétrie à l'échantillon. Ce dernier est ensuite ajusté à un pH 3,0 ± 0,2 grâce à de l'acide formique.

Les cartouches Oasis® MCX (60mg, 3cc) (Waters, Guyancourt, France) sont conditionnées avec 3 mL de méthanol et 3 mL d'Evian® (0,05% EDTA (v/v)) ajusté à pH 3,0 ± 0,2 avec de l'acide formique. Après la percolation de l'échantillon à un débit de 5 $mL.min^{-1}$, les cartouches sont séchées sous vide puis éluées par 3 mL de méthanol (6% HCOOH (v/v)) et 3 mL de méthanol (2% NH_4OH (v/v)). L'éluat, contenu dans un flacon en verre ambrée de 10 mL est ensuite évaporé sous vide à une température de 40°C grâce au système de concentration Savant SC250Exp SpeedVac® (Thermo-Scientific, Villebon sur Yvette, France). Enfin l'échantillon est reconstitué dans 200µL d'un mélange eau-méthanol (90/10 (v/v)) et transféré dans un flacon en verre ambré avec restricteur de 250 µL en vue de son analyse.

2.4.4. Analyse par UPLC-MS²

La méthode UPLC utilise une colonne Acquity® UPLC BEH C18 (1,7µm ; 2,1mm x 100mm) (Waters), chauffée à 40°C sous un gradient H_2O (0,1% CH_3COOH (v/v))-ACN (0,1% CH_3COOH) à un débit de 0,6 $mL.min^{-1}$. Le volume d'échantillon injecté est de 7,5 µL. Le gradient chromatographique est détaillé en TABLEAU 5.3 et les temps de rétention sont donnés à titre indicatif dans le TABLEAU 5.4.

temps (min)	phase mobile		débit (mL/min)	curve
	H_2O (0,1%CH_3COOH)	ACN (0,1%CH_3COOH)		
0	95%	5%	0,6	6
1,5	95%	5%	0,6	6
9	40%	60%	0,6	6
10	5%	95%	0,6	6
12	5%	95%	0,6	6
12,5	95%	5%	0,6	6
17	95%	5%	0,6	6

TABLEAU 5.3 – Conditions chromagraphiques de la méthode

L'introduction des molécules dans l'analyseur de masse est assurée par une source d'ionisation par électro-spray en mode positif. La tension du capillaire a été

réglée à 2,7kV et la température de la source à 150°C. Le gaz de désolvatation (azote), chauffé à 650°C, circule à un débit de 1000 $L.h^{-1}$. La pression du gaz de collision (argon) est maintenue à environ 3,5 e^{-3} mbar. Le triple quadripôles, utilisé en mode MRM, a permis la détection des analytes et des étalons internes. L'ensemble des paramètres retenus pour la détection des étalons internes est récapitulé en TABLEAU 5.4.

composé	t_R (min)	mode ESI	ion précurseur [tension de cone (V)]		ion de quantification [énergie de collision (eV)]		ion de confirmation [énergie de collision (eV)]	
HCBZ	4,32	+	271,3	[12]	180,1	[26]	253,1	[8]
ZLP-4A	3,40	+	338,6	[24]	265,2	[36]	293,2	[26]
ZLP-4A D6	3,38	+	334,3	[28]	265,1	[37]		
BZL	3,53	+	290,1	[28]	105,0	[30]	168,0	[20]
BZL D8	3,50	+	298,1	[28]	110,0	[30]		
CBZ	5,93	+	237,2	[26]	194,1	[19]	192,1	[19]
CBZ D8	5,89	+	245,2	[26]	202,1	[19]		
CIT	5,43	+	325,1	[30]	109,0	[24]	262,1	[19]
CIT D6	5,42	+	331,3	[34]	108,9	[26]		
COC	4,22	+	304,3	[24]	182,2	[20]	150,1	[24]
COC D5	4,20	+	309,2	[28]	182,1	[20]		
COD	2,33	+	300,2	[39]	165,2	[40]	215,2	[26]
COD D3	2,31	+	303,3	[39]	164,9	[40]		
DCIT	5,35	+	311,0	[29]	109,0	[24]	234,0	[28]
DCIT 13C-D3	5,34	+	315,3	[32]	108,9	[23]		
DZP	7,53	+	285,0	[36]	193,2	[30]	154,0	[27]
DZP D5	7,49	+	290,2	[36]	198,2	[30]		
DCF	8,37	+	296,0	[20]	250,0	[12]		
DCF D4	8,34	+	300,0	[19]	254,1	[16]		
EDDP	5,66	+	278,2	[44]	234,1	[31]	249,1	[24]
EDDP D3	5,66	+	281,4	[44]	234,2	[31]		
FLX	6,37	+	310,3	[14]	44,1	[9]	148,1	[8]
FLX D6	6,35	+	316,3	[17]	44,1	[10]		
GBP	2,09	+	172,1	[23]	154,1	[12]	95,0	[21]
GBP D4	2,06	+	176,2	[23]	158,1	[14]		
MDMA	2,92	+	194,1	[19]	162,9	[13]	105,1	[23]
MDMA D5	2,91	+	199,1	[19]	165,0	[13]		
MMT	4,65	+	180,3	[24]	163,2	[16]	107,1	[24]
MMT D6	4,63	+	188,2	[28]	171,1	[17]		
MTD	6,23	+	310,2	[24]	105,0	[30]	265,1	[16]
MTD D9	6,21	+	319,4	[27]	104,9	[30]		
NCOD	2,04	+	286,3	[37]	165,1	[37]	268,2	[20]
NCOD D3	1,99	+	289,3	[36]	165,0	[35]		
NDZ	6,84	+	271,3	[38]	140,0	[28]	165,0	[28]
NDZ D5	6,79	+	276,3	[39]	140,0	[30]		
DVLF	3,59	+	264,3	[22]	58,0	[17]	133,0	[26]
DVLF D6	3,56	+	270,4	[22]	58,1	[17]		
OXA	6,30	+	287,3	[27]	241,1	[24]	269,1	[15]
OXA D5	6,27	+	292,0	[27]	246,1	[24]		
PZP	8,75	+	325,1	[32]	271,1	[24]	140,0	[38]
PZP D5	8,72	+	330,3	[35]	276,1	[24]		
TTZ	7,69	+	289,0	[36]	197,0	[32]	225,1	[29]
TTZ 13C-D3	7,66	+	293,2	[38]	201,1	[33]		
TMD	3,92	+	264,2	[20]	58,0	[16]	246,2	[12]
TMD D6	3,91	+	270,3	[20]	64,0	[16]		
VLX	4,68	+	278,2	[20]	121,0	[27]	215,1	[17]
VLX D6	4,67	+	284,4	[20]	121,1	[28]		
ZLP	4,45	+	308,4	[41]	235,2	[34]	263,2	[25]
ZLP D6	4,42	+	314,4	[44]	235,2	[42]		

TABLEAU 5.4 – Temps de rétention et paramètres MRM utilisés dans la méthode de référence

Deux transitions ont été retenues pour chaque composé, la plus intense étant généralement utilisée pour la quantification et la seconde pour la confirmation. Cela n'a toutefois pas était possible pour le diclofénac pour lequel une seule transition a été trouvée. Pour tous les autres composés, un total de quatre critères d'identification a été retenu : le temps de rétention, 2 transitions MRM et leur rapport d'abondance (dans une tolérance de 20 à 50%) comme le préconise les Directives du Conseil Européen sur les exigences de performance pour la détection par spectrométrie de masse (European Commission, 2002).

Afin d'obtenir des temps de lecture sur chaque masse suffisant, seules les transitions de quantification ont été conservées pour les étalons internes marqués.

2.5. Méthode de quantification

Le processus de mesure peut être décrit mathématiquement en utilisant les grandeurs d'entrée utilisées pour calculer le résultat c'est-à-dire utilisant les données des droites d'étalonnage, les masses des échantillons et les quantités d'étalons internes introduites et le rendement d'extraction selon la formule suivante :

$$C = 1000 \frac{C^{*}\,(Q_{ech})\; f_{étal}\;(m_3 - m_2)}{(m_2 - m_1)\;R} + f_{fid}$$

EQUATION 5.1– Modèle mathématique pour le calcul de la concentration en analyte dans l'échantillon exprimée en $ng.L^{-1}$

avec :

- C la concentration en analyte dans l'échantillon ($ng.L^{-1}$)
- C^{*} la concentration de la solution de dopage d'étalons internes marqués ($ng.g^{-1}$)
- $Q_{ech} = \frac{Q}{Q^{*}}$ le rapport de quantité modélisé dans l'échantillon (analyte/étalon interne marqué)
- m_1 la masse moyenne du flacon vide (n=3) (g)
- m_2 la masse moyenne du flacon avec la prise d'essai échantillon (n=3) (g)
- m_3 la masse moyenne du flacon avec la prise d'essai échantillon et la solution de dopage d'étalons internes marqués (n=3) (g)
- R le rendement moyen de la méthode de témoins positifs indépendants (n=4)
- $f_{étal}$ un facteur correctif lié à l'incertitude sur la concentration des solutions utilisées pour construire la courbe d'étalonnage
- f_{fid} un facteur correctif lié à la fidélité intermédiaire
- 1000 facteur de conversion des $ng.g^{-1}$ en $ng.L^{-1}$ en considérant la masse volumique de l'échantillon égale celle de l'eau ($g.mL^{-1}$)

Le rapport de quantité modélisé est calculé grâce aux coefficients b_1 et b_0 de la droite d'étalonnage déterminés par la méthode des moindres carrés. Les facteurs correctifs $f_{étal}$ et f_{fid} sont respectivement égaux à 1 et 0. En effet, ils n'entrent pas en compte dans le calcul de la concentration mais sont décrits dans le modèle car leurs incertitudes contribuent à l'incertitude totale.

3. Caractérisation des performances initiales de la méthode

La norme française NF T 90-210 fournie un protocole d'évaluation des performances initiales d'une méthode dans le domaine de l'analyse des eaux (NF T90-210, 2009). En utilisant les outils proposés dans cette norme, l'adéquation du modèle d'étalonnage, les limites de quantification et l'influence de l'étape de préparation ont été étudiées dans le but de valider la méthode dans ses conditions d'utilisation.

3.1. Analyse du modèle d'étalonnage

3.1.1. Définition du modèle : exemple de la carbamazépine

Les modèles d'étalonnage ont été définis dans des conditions de fidélité intermédiaire sur 5 journées différentes. Les résultats obtenus lors de l'une d'entre elle sont présentés ici. Comme indiqué dans le paragraphe 2.4.2, 13 solutions ont été préparées à des concentrations en analytes comprises entre 0,06 ng.g^{-1} et 340 ng.g^{-1} et en étalons internes marqués constantes à 30 ng.g^{-1}. Les triplicats d'injection de ces solutions pour les cinq niveaux de concentration encadrant au mieux le rapport A/A* observé dans l'échantillon à quantifier ont été choisis pour définir une droite d'étalonnage en 5x3 points adaptée à chaque composé. L'exemple de la carbamazépine est présenté en FIGURE 5.5 avec une gamme définie dans un intervalle de rapport d'aire de [0,1 ; 0,9] pour quantifier des échantillons dont le rapport d'aire moyen est de 0,52 et compris dans un intervalle [0,47 ; 0,59].

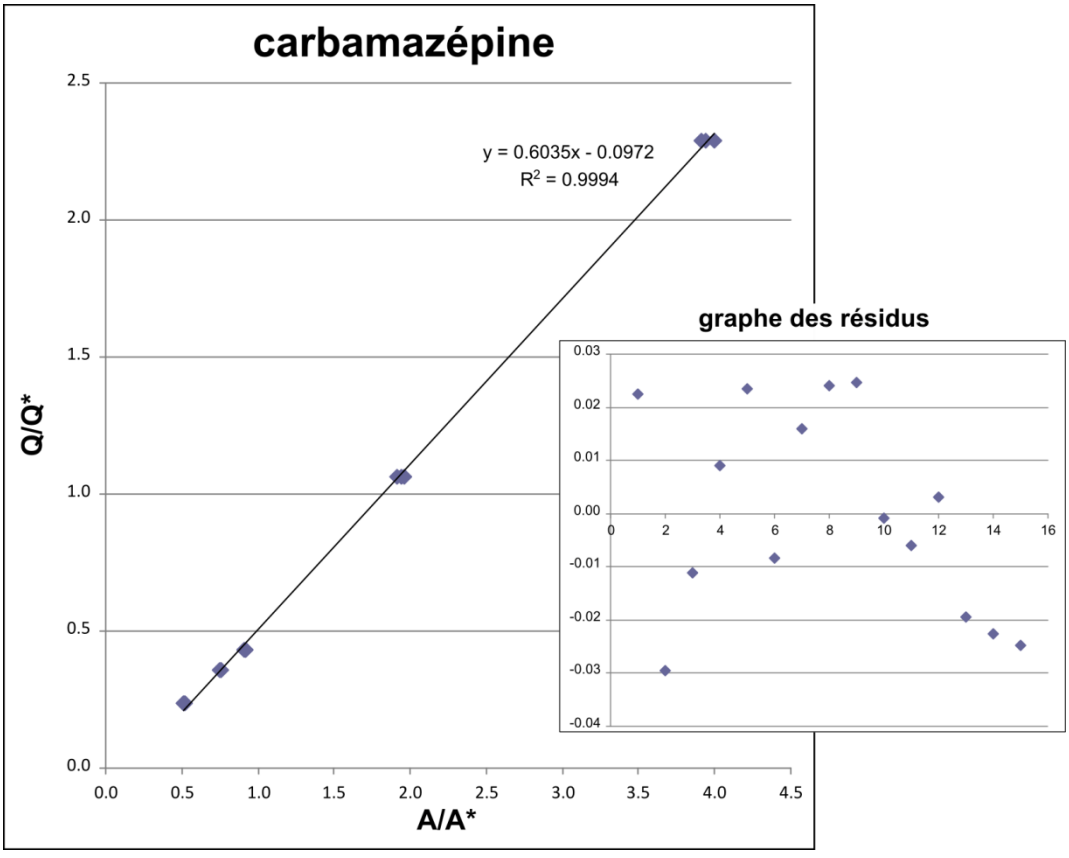


FIGURE 5.5 – Modèle d'étalonnage pour la détermination de la concentration en analyte dans l'échantillon : exemple de la carbamazépine

Le modèle obtenu a ensuite été étudié en observant les coefficients de régression linéaire R^2 et le graphe des résidus puis en réalisant un test de linéarité. Le TABLEAU 5.5 récapitule l'exploitation de la gamme d'étalonnage pour la carbamazépine dans les conditions de l'expérience. Les notations utilisées ici sont :

- $Q_{étal} = \frac{Q}{Q*}$ le rapport de quantité dans la solution étalon (analyte/étalon interne marqué)
- $A_{étal} = \frac{A}{A*}$ le rapport d'aire dans la solution étalon (analyte/étalon interne marqué)
- $\overline{A}_{étal}$ le rapport d'aire moyen du triplicat d'injection dans la solution étalon
- $\hat{A}_{étal}$ le rapport d'aire modélisé dans la solution étalon

$Q_{étal}$	$A_{étal}$	$\overline{A}_{étal}$	$\hat{A}_{étal}$	**résidus model**	**résidus répétabilité**	**$\Sigma_{résidus}$**	**$\sigma^2_{répétabilité}$**
0,4340	0,9065	0,9159	0,9165	-0,0006	-0,0094	-0,0100	6,666E-05
	0,9201				0,0041	-0,0058	
	0,9212				0,0053	-0,0006	
0,3597	0,7556	0,7550	0,7612	-0,0062	0,0006	-0,0056	5,583E-05
	0,7472				-0,0078	-0,0134	
	0,7621				0,0071	-0,0062	
0,2364	0,5207	0,5160	0,5035	0,0125	0,0047	0,0171	1,931E-05
	0,5154				-0,0006	0,0166	
	0,5119				-0,0041	0,0125	
0,1066	0,2317	0,2287	0,2321	-0,0033	0,0030	-0,0003	9,266E-06
	0,2288				0,0001	-0,0002	
	0,2256				-0,0031	-0,0033	
0,0451	0,0998	0,1010	0,1034	-0,0023	-0,0012	-0,0035	1,096E-06
	0,1015				0,0005	-0,0031	
	0,1017				0,0007	-0,0023	
somme des carrés des écarts	1,4133922		0,4708175	0,0002118	0,0003043		

TABLEAU 5.5 – Exploitation de la gamme d'étalonnage utilisée pour quantifier la carbamazépine dans les eaux de surface

3.1.2. Homogénéité des variances : exemple de la carbamazépine

Le test de linéarité nécessite que les variances soient homogènes. Comme le montre le TABLEAU 5.6, un test de Cochran à 1% a permis de vérifier l'homogénéité des variances quelque soit le niveau de concentration.

		C_{obs}	**$C_{1\%}$**
$\sigma^2_{répétabilité}$ max	6,666E-05	0,438	0,788
$\Sigma(\sigma^2_{répétabilité})$	1,522E-04		

TABLEAU 5.6 – Analyse de stabilité du modèle d'étalonnage de la carbamazépine dans des conditions de répétabilité

Ce test statistique permet l'analyse des variances au sein d'un jeu de données de taille n (ici n=15) dans chacune des populations k (ici k=5) en comparant le C_{obs} à une valeur seuil de la table de Cochran pour un risque ∝ (ici choisi à 1%) et pour n et k. Si :

$$C_{obs} = \frac{\sigma^2{}_{\max}}{\sum \sigma^2{}_i} < C_{1\%}$$

alors, l'hypothèse selon laquelle les variances des populations sont égales entre elles est validée. Il n'existe pas de différence significative entre les variances des lots : elles sont homogènes.

3.1.3. Significativité et adéquation du modèle : exemple de la carbamazépine

Dans l'exemple cité, les variances étant homogènes, il est alors possible de les comparer entre elles par ANOVA (ANalysis Of Variance). L'exemple pour le modèle d'étalonnage de la carbamazépine est présenté en TABLEAU 5.7 :

	somme des carrés des écarts	degrés de liberté	carrés moyen	F_{obs}	$F_{1\%}$
expliqués	0,4708175	1	0,4708175	15471,46	10,04
non linéarité	0,0002118	3	7,061E-05	2,32	6,55
résiduels	0,0003043	10	3,043E-05		
totaux	1,4133922	14	0,1009566		

TABLEAU 5.7 – Analyse de la variance pour le modèle d'étalonnage de la carbamazépine

Un test de Fisher permet de vérifier l'hypothèse d'égalité entre deux variances en comparant leur ratio à une valeur seuil de la table de Fisher pour un pour un risque ∝ (ici choisi à 1%). Si :

$F_{obs} = \frac{\sigma^2{}_X}{\sigma^2{}_Y} < F_{1\%}$ alors l'hypothèse $\sigma^2{}_X = \sigma^2{}_Y$ est vraie.

Ce test a été effectué sur les valeurs expliquées c'est-à-dire sur les rapports d'aires modélisés par rapport aux résidus de répétabilité. Dans ce cas $F_{obs} >> F_{1\%}$, l'hypothèse d'égalité des variances est donc rejetée. Cela signifie donc que les variables modélisées n'ont pas été obtenues aléatoirement et que les coefficients de régression sont significatifs : le modèle explique les données.

Le test de Fisher a également été effectué sur les résidus de non linéarité (écarts au modèle) par rapport aux résidus de répétabilité. Dans ce cas $F_{obs} < F_{1\%}$, l'hypothèse d'égalité des variances est acceptée. Cela signifie donc que la linéarité de la fonction d'étalonnage est vérifiée, le modèle choisi est adéquat.

3.1.4. Résultats : application à l'ensemble des analytes

La définition et l'analyse du modèle d'étalonnage telles que présentées pour la carbamazépine ont été effectuées pour l'ensemble des composés analysés. Les résultats de ces analyses sont présentés en TABLEAU 5.8. Pour 24 des 25 composés étudiés, les tests de Cochran ont permis de conclure à l'homogénéité des variances.

Pour ces composés la répétabilité est donc stable dans le domaine défini par le modèle. Seul le desméthylcitalopram affiche des variances non homogènes au sens statistique. Ceci s'explique par une dispersion plus importante observée pour un des cinq niveaux de concentration considéré. Toutefois, cette variabilité (23%), observée sur le point haut de gamme, est cohérente d'un point de vue expérimental. C'est pourquoi ces valeurs ont été conservées et leur dispersion répercutée dans le calcul des incertitudes du modèle.

	coef. de régression linéaire R^2	C_{obs}	$C_{1\%}$	homogénéité des variances	F_{obs} (expliqué)	$F_{1\%}$	significativité du modèle	F_{obs} (non-linéaire)	$F_{1\%}$	adéquation du modèle
HCBZ	0,9952	0,479	0,79	homogène	4 917	6,55	significatif	6,824	6,55	non-vérifiée
ZLP-4A	0,9990	0,665	0,79	homogène	10 855	6,55	significatif	2,414	6,55	vérifiée
BZL	0,9995	0,437	0,79	homogène	16 146	6,55	significatif	1,298	6,55	vérifiée
CBZ	0,9993	0,438	0,79	homogène	15 471	6,55	significatif	2,320	6,55	vérifiée
CIT	0,9987	0,502	0,79	homogène	8 169	6,55	significatif	2,336	6,55	vérifiée
COC	0,9984	0,467	0,79	homogène	6 389	6,55	significatif	2,285	6,55	vérifiée
COD	0,9976	0,481	0,79	homogène	1 667	6,55	significatif	0,229	6,55	vérifiée
DCIT	0,9956	0,956	0,79	non-homogène	1 305			0,802		
DZP	0,9985	0,742	0,79	homogène	3 407	6,55	significatif	0,637	6,55	vérifiée
DCF	0,9988	0,525	0,79	homogène	12 905	6,55	significatif	3,963	6,55	vérifiée
EDDP	0,9994	0,373	0,79	homogène	27 980	6,55	significatif	4,585	6,55	vérifiée
FLX	0,9969	0,444	0,79	homogène	1 633	6,55	significatif	0,555	6,55	vérifiée
GBP	0,9953	0,548	0,79	homogène	82 010	6,55	significatif	128,662	6,55	non-vérifiée
MDMA	0,9994	0,758	0,79	homogène	18 605	6,55	significatif	2,262	6,55	vérifiée
MMT	0,9985	0,501	0,79	homogène	7 355	6,55	significatif	2,539	6,55	vérifiée
MTD	0,9997	0,474	0,79	homogène	15 803	6,55	significatif	0,168	6,55	vérifiée
NCOD	0,9950	0,760	0,79	homogène	670	6,55	significatif	0,004	6,55	vérifiée
NDZ	0,9988	0,743	0,79	homogène	3 082	6,55	significatif	0,126	6,55	vérifiée
DVLF	0,9983	0,786	0,79	homogène	16 634	6,55	significatif	8,136	6,55	non-vérifiée
OXA	0,9916	0,751	0,79	homogène	26 510	6,55	significatif	73,701	6,55	non-vérifiée
PZP	0,9998	0,397	0,79	homogène	102 222	6,55	significatif	4,079	6,55	vérifiée
TTZ	0,9951	0,391	0,79	homogène	1 938	6,55	significatif	2,057	6,55	vérifiée
TMD	0,9993	0,433	0,79	homogène	108 409	6,55	significatif	23,743	6,55	non-vérifiée
VLF	0,9985	0,540	0,79	homogène	5 146	6,55	significatif	1,397	6,55	vérifiée
ZLP	0,9989	0,653	0,79	homogène	6 823	6,55	significatif	1,394	6,55	vérifiée

TABLEAU 5.8 – Analyse du modèle d'étalonnage : coefficient de régression linéaire et analyses des variances dans des conditions de répétabilité

L'analyse de la variance (ANOVA) a mis en évidence la significativité du modèle pour l'ensemble des composés étudiés. D'autre part, la linéarité du modèle a été démontrée pour 19 des 25 composés étudiés. Pour la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine, la gabapentine, l'*O*-desmethylvenlafaxine, l'oxazépam et le tramadol la linéarité n'a pu être vérifiée au sens statistique. Pour ces composés, l'observation détaillée des résidus ne permet pas de mettre en évidence quelconques tendances pointant une inadéquation des modèles. Aussi, les résultats du test de

Fisher s'expliquent par le fait que, pour ces composés, la dispersion des résultats est plus petite que l'écart au modèle. La variabilité expérimentale pouvant survenir lors d'une analyse permet d'expliquer les écarts au modèle observés. Ces écarts ont donc été considérés comme acceptables et intégrés dans les incertitudes des modèles concernés.

Après avoir étudié le modèle d'étalonnage, l'évaluation des performances initiales de la méthode s'est poursuivie par la détermination des limites de quantification.

3.2. Détermination des limites de quantification

3.2.1. Définition

La limite de quantification (LQ) est définie comme « *la plus petite quantité ou concentration d'un analyte dans un échantillon d'essai qui peut être distinguée de manière fiable du zéro* » (NF T90-210, 2009). En raison des critères d'indentification choisis afin de pouvoir satisfaire aux exigences fixées par les directives du conseil européen c'est-à-dire la présence de deux transitions MRM et le ratio de leurs abondances dans un intervalle de tolérance de 20 à 50% (European Commission, 2002). Les LQ de la méthode ont été déterminées aux concentrations pour lesquelles :

- la transition de quantification et la transition de confirmation présentent tous deux un rapport signal/bruit supérieur à 10,
- les aires des transitions de quantification et de confirmation présentent un écart-type relatif inférieur à 20% dans des conditions de répétabilité (n=3).

La norme NF 90-210 précise que les LQ doivent être caractérisées en vérifiant que les LQ présupposées sont acceptables dans une matrice considérée et que cette vérification doit être réalisée dans les conditions d'application de la méthode (NF T90-210, 2009).

3.2.2. Résultats

La première étape du processus a donc été de déterminer des limites LQ présupposées. Des solutions étalon de concentrations décroissantes ont été analysées afin de déterminer la LQ instrumentale c'est-à-dire la quantité injectée minimale permettant d'obtenir un signal répondant aux critères définis précédemment. Une fois la LQ instrumentale identifiée, des droites d'étalonnage ont été définies à cinq niveaux, chacun injecté en triplicat, la LQ instrumentale correspondant au point bas. Puis, le rapport de quantité modélisée à la LQ intrumentale a été utilisé pour extrapoler la LQ présupposée dans les échantillons dans les conditions d'application de la méthode. Les LQ ainsi estimées sont présentées en TABLEAU 5.9.

Afin de valider les LQ dans les échantillons par une approche directe, deux échantillons indépendants d'eau d'Evian® ont été dopés à façon pour chaque composé au niveau de la LQ estimée et à 2 fois la LQ estimée. L'extraction a été effectuée selon le protocole habituel et chaque échantillon a été analysé en triplicat d'injection. La même démarche a été appliquée sur deux échantillons indépendants d'eau de surface de Seine.

Aucun des composés recherchés n'a pu être quantifié dans les échantillons d'eau d'Evian® non dopés. Ainsi la concentration mesurée dans les échantillons dopés a pu être directement comparée à la valeur théorique. Comme le préconise la norme NF 90-2010, il s'agit de s'assurer de l'exactitude de la valeur de la LQ présupposée par rapport à un écart maximal acceptable de 60 % comme l'illustre la FIGURE 5.6.

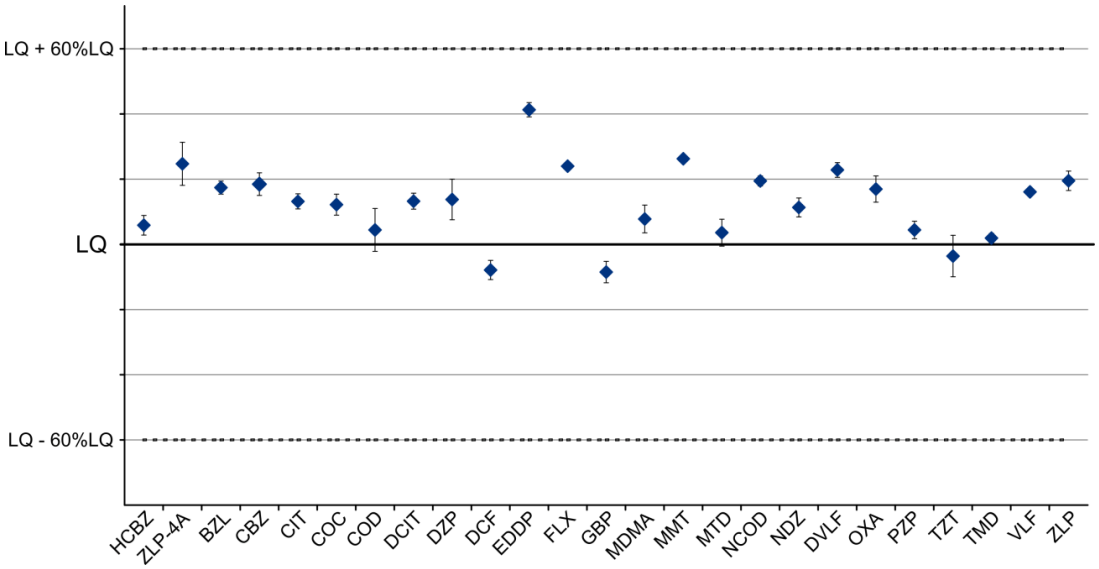


FIGURE 5.6 – Vérification des limites de quantification dans une eau d'Evian pour l'ensemble des composés analysés (n=2)

Les performances de la méthode sont donc confirmées à ces niveaux de concentration. Les valeurs expérimentales des limites de quantification correspondent aux valeurs estimées pour l'ensemble des composés à l'exception du diclofénac pour lequel un écart par rapport aux critères d'acceptation a été constaté pour un des échantillons à 0,7 ng.L^{-1}. La limite de quantification pour ce composé a donc été validée à 1,30 ng.L^{-1} afin de répondre aux critères fixés. Au vue des résultats obtenus *a posteriori* ces critères auraient été satisfaits pour la totalité des composés à l'exception de l'EDDP avec un écart minium acceptable à la LQ de 30%.

En matrice « eau de Seine » (mélange d'eaux prélevées sur 4 sites différents), tous les composés ont été quantifiés dans les échantillons non dopés, à l'exception de la fluoxétine et du zolpidem. Le fait de ne pas disposer de matrices représentatives exemptes d'analyte constitue la limite majeure du processus de validation des LQ mis en oeuvre. En effet pour la majorité des composés la concentration initiale des échantillons est bien supérieure à la limite de quantification. Cela rend impossible la distinction d'un dopage équivalent à la LQ étant donné les incertitudes de mesure de l'échantillon non dopé.

En conséquence, seuls les composés dont la concentration des échantillons non dopés était suffisamment faible par rapport à la valeur de la LQ ont donc été considérés. La FIGURE 5.7 présente les résultats pour ces composés et confirme la validation des LQ dans les critères d'acceptation préconisés par la norme 90-210. Le composé présentant la LQ la plus élevée est le tramadol avec 3,54 ng.L^{-1}. A cette valeur l'ion de quantification reste très largement au dessus des conditions de quantification. En revanche, avec un rapport d'intensité proche de 60, l'ion de confirmation est quant à lui aux limites des critères définis au début de ce paragraphe.

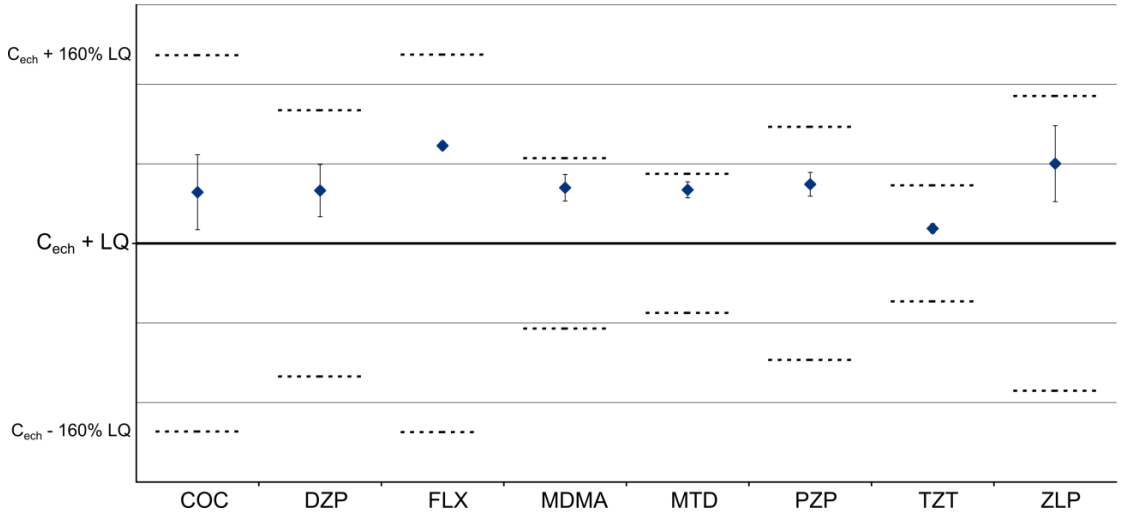


FIGURE 5.7 – Vérification des limites de quantification en matrice pour 8 des 25 composés analysés (n=2)

Les limites de quantification pour l'ensemble des composés étudiés sont affichées dans le TABLEAU 5.9.

	$LQ_{estimée}$ ($ng.L^{-1}$)	$LQ_{expérimentale}$ ($ng.L^{-1}$)
HCBZ	1,33	1,35
ZLP-4A	0,17	0,17
BZL	0,15	0,14
CBZ	0,22	0,23
CIT	0,16	0,17
COC	0,28	0,28
COD	0,69	0,72
DCIT	0,23	0,24
DZP	0,22	0,20
DCF	0,73	1,30
EDDP	0,25	0,24
FLX	1,97	2,29
GBP	0,37	0,38
MDMA	0,18	0,16
MMT	0,14	0,15
MTD	0,17	0,18
NCOD	0,27	0,26
NDZ	0,21	0,19
DVLF	0,32	0,30
OXA	0,17	0,18
PZP	0,34	0,33
TTZ	0,25	0,23
TMD	3,18	3,54
VLF	1,65	1,83
ZLP	0,19	0,16

TABLEAU 5.9 – Limites de quantification estimées et expérimentales pour l'ensemble des composés analysés

Les critères de LQ choisis peuvent donc s'avérer pénalisants pour les composés dont la fragmentation produit des ions en abondance inégale. Il s'agit toutefois d'une décision consciente et assumée dans le but d'assurer la qualité de la donnée. Il semble en effet contradictoire de quantifier une molécule sur le seul fait que l'intensité de signal soit suffisante et dont l'identification ne peut être confirmée.

Cela dit, et malgré cette exigence, les limites de quantifications sont satisfaisantes pour l'ensemble des composés analysés au regard de celles rapportée dans d'autres méthodes d'analyse. De plus, les valeurs constatées dans l'environnement durant les campagnes de mesure indiquent que les LQ obtenues sont adaptées à la quantification de l'ensemble des analytes dans les eaux de surface : 19 composés présentent des LQ inférieures à 0,5 $ng.L^{-1}$, 1 composé entre 0,5 et 1 $ng.L^{-1}$, 5 composés entre 1 et 3,54 $ng.L^{-1}$.

A titre de comparaison, des LQ comprises en 3 et 6 ng.L-1 ont été obtenues pour la carbamazépine, le diazépam, le diclofénac et l'oxazépam dans d'une méthode développée pour la caractérisation de 40 composés pharmaceutiques dans les eaux de surface et validée selon les exigences de la norme 90-210 (Idder, 2012). Boleda *et al.* ont publié une méthode pour l'analyse de 53 résidus médicamenteux dans les eaux de surface en accord avec les procédures définies dans la norme ISO 17025. La LQ obtenue pour le diclofénac dans ces conditions était de 4 $ng.L^{-1}$ (Boleda et al., 2013). La bibliographie fait également part d'autres méthodes multi-résidus similaires. Des LQ de l'ordre de 0,5 $ng.L^{-1}$ ont notamment été rapportées pour la mémantine, le tramadol, la venlafaxine et le zolpidem (Grabic et al., 2012). Avec des LQ allant de 0,1 à 0,5 $ng.L^{-1}$, des résultats comparables ont été décrits par Baker *et al.* dans une méthode mettant en œuvre la dilution isotopique pour la cocaïne, la benzoylecgonine, la MDMA, la codéine, la méthadone, l'EDDP, le diazépam et l'oxazépam (Baker et al., 2011a). Avec 5 $ng.L^{-1}$, les LQ rapportées pour la fluoxétine dans ces deux méthodes étaient plus importantes, ce qui est cohérent avec les résultats obtenus ici.

3.3. Taux de récupération et rendements méthode

3.3.1. Définition

Les rendements méthode et les rendements d'extraction ont été déterminés en analysant des échantillons indépendants de 500 mL d'eau d'Evian® dopés à environ 70 $ng.L^{-1}$ en analytes et étalons internes. Comme l'illustre la FIGURE 5.8, le dopage en étalons internes a été effectué respectivement avant l'étape d'extraction pour l'obtention du rendement méthode (protocole A) et après pour le rendement d'extraction (protocole B). Chacun d'entre eux est exprimé en % et se défini comme le rapport entre la concentration mesurée et la concentration théorique dans l'échantillon.

Le taux de récupération noté R_{SPE}, exprimé en %, est défini, quant à lui, comme le rapport des rendements moyens méthode et extraction obtenus par mise en œuvre respective des protocoles A et B tel que :

$$R_{SPE} = \frac{\overline{R}_{méthode}}{\overline{R}_{extraction}}$$

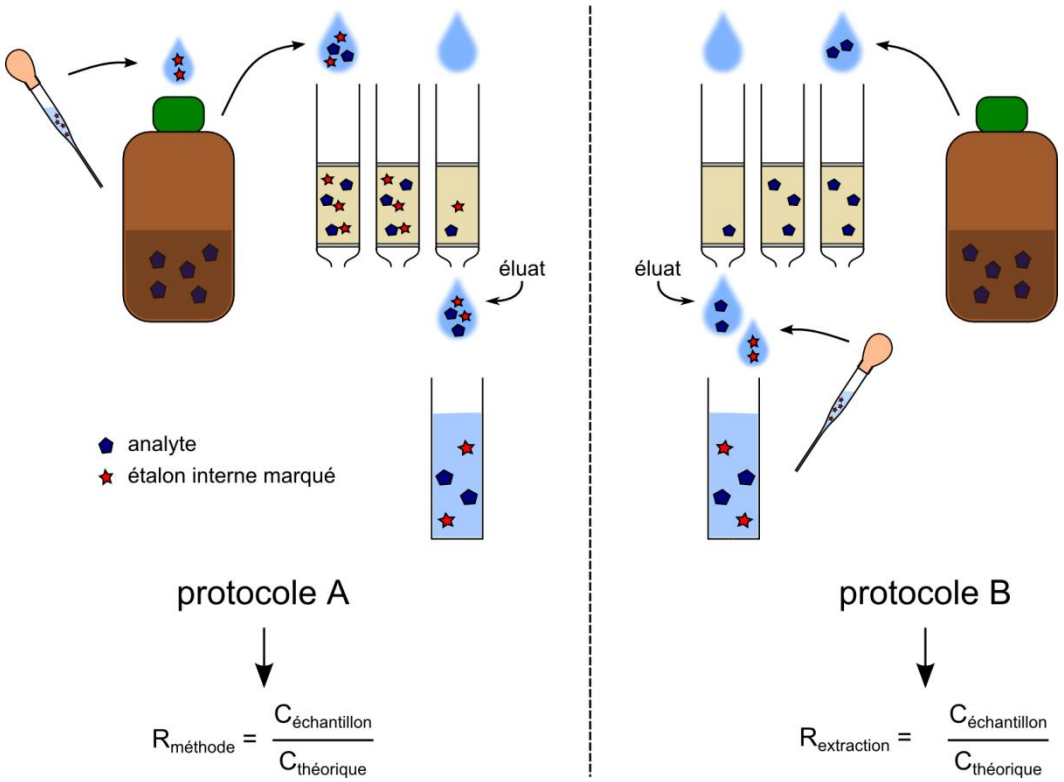


FIGURE 5.8 – Protocoles mis en œuvre pour la détermination des rendements méthode et des rendements d'extraction.

3.3.2. Résultats

En suivant la méthodologie décrite précédemment, des droites d'étalonnage en 15 (5x3) points ont été obtenues pour chaque composé en utilisant les triplicats de cinq niveaux de concentration encadrant le rapport A/A* observé dans les échantillons. Les concentrations en analytes dans les points de gamme variaient entre 7 $ng.g^{-1}$ et 75 $ng.g^{-1}$ couvrant une gamme de concentration allant d'environ 3,5 $ng.L^{-1}$ à 140 $ng.L^{-1}$. Le TABLEAU 5.10 présente les rendements méthode, les rendements d'extraction et les taux de récupération pour l'ensemble des composés. Ces résultats ont été obtenus dans des conditions de répétabilité sur 4 échantillons indépendants.

Pour les échantillons dont les étalons internes ont été introduits dès le début de la préparation (protocole A), les rendements varient respectivement entre 79 et 118% pour la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine et la mémantine. La valeur moyenne se situe à 101%. Les écarts-types relatifs de répétabilité sont tous très faibles, la moyenne étant de 1% et la maximale de 4% pour la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine. Pour les échantillons dont les étalons internes ont été introduits après l'extraction sur SPE (protocole B), la distribution des rendements est similaire avec une valeur moyenne de 101%, un minimum de 88% pour la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine et un maximum de 126% pour l'acide zolpidem 4-phényl carboxylique. Les écarts types relatifs de répétabilité sont en revanche plus élevés et varient respectivement d'un minimum de 4 à un maximum de 10% pour l'acide zolpidem 4-phényl carboxylique et le desméthylcitalopram.

	$R_{méth\ 1}$ (%)	$R_{méth\ 2}$ (%)	$R_{méth\ 3}$ (%)	$R_{méth\ 4}$ (%)	$\overline{R}_{méth}$ (%)	rép.[a] (%)	$R_{extr\ 1}$ (%)	R' 2 (%)	R' 3 (%)	R' 4 (%)	$\overline{R}'$ (%)	rép.[a] (%)	R_{SPE} (%)
HCBZ	81	77	75	81	79	4	92	86	76	84	84	8	93
ZLP-4A	111	115	113	107	111	3	128	133	120	124	126	4	88
BZL	102	102	102	102	102	0	109	111	94	101	104	8	98
CBZ	98	97	98	97	98	1	105	108	89	96	100	8	98
CIT	98	97	98	99	98	1	102	105	85	92	96	9	102
COC	97	98	98	98	98	1	106	106	90	97	100	8	98
COD	100	99	100	99	100	1	105	107	90	96	100	8	100
DCIT	100	97	100	102	100	2	100	100	81	86	92	10	109
DZP	100	99	100	100	100	1	106	108	90	96	100	9	100
DCF	105	107	106	106	106	1	113	119	103	110	111	6	95
EDDP	108	109	109	110	109	1	110	111	91	99	103	9	106
FLX	104	102	103	105	103	1	108	110	91	99	102	9	101
GBP	92	93	92	93	92	1	96	99	82	89	91	8	101
MDMA	101	102	101	102	102	1	102	103	86	93	96	8	106
MMT	117	118	118	119	118	1	124	127	107	116	119	8	100
MTD	98	98	98	99	98	1	104	105	88	94	98	8	100
NCOD	102	102	102	102	102	0	104	106	90	96	99	7	103
NDZ	98	98	98	98	98	0	105	106	89	96	99	8	99
DVLF	105	104	105	105	105	0	112	113	94	100	105	9	100
OXA	105	107	104	104	105	1	115	116	101	108	110	6	95
PZP	99	98	99	100	99	1	106	108	90	97	100	8	99
TTZ	98	98	99	98	98	1	99	102	84	87	93	10	105
TMD	98	98	98	98	98	0	103	104	87	94	97	8	101
VLF	102	103	104	104	103	1	109	110	91	97	102	9	101
ZLP	103	105	107	104	105	2	114	116	97	105	108	8	97

[a] : écart-type relatif de répétabilité

TABLEAU 5.10 – Rendements méthode, d'extraction et taux de récupération dans des conditions de répétabilité (1 jour x 4 échantillons)

Ces résultats indiquent d'une part l'excellente robustesse de la méthode dans des conditions de répétabilité. En effet, la dispersion maximale du rendement méthode est de 4% et a été observé pour l'unique composé n'étant pas quantifié par son homologue marqué. La dilution isotopique compense donc efficacement les sources de variabilité potentielle du processus analytique. L'augmentation des écart-types de répétabilité pour les rendements d'extraction par rapport aux rendements méthode indique par ailleurs que cette compensation s'effectue notamment à l'étape de préparation par SPE. Cela étant dit, les dispersions des rendements d'extraction sont inférieures ou égales à 10% ce qui témoigne de bonnes performances intrinsèques de la méthode développée concernant l'étape de préparation d'échantillon par SPE. En outre, les taux de récupération sont excellents : leur moyenne est de 100% et leurs extremums de 88 et 109%. Ils sont par exemple de 93% pour 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine et de 100% pour la mémantine. Les rendements méthodes observés pour ces composés ne sont donc pas dus à une différence d'affinité pour la phase d'extraction entre analyte et étalon interne mais au procédé de quantification. L'acide zolpidem 4-phényl carboxylique et le desméthylcitalopram présentent quant à eux des taux de récupération de 88 et 109% respectivement semblant indiquer une

légère perte durant l'étape de SPE pour le premier (les écart-types étant très faibles pour tous les échantillons) et une variabilité sur SPE plus importante pour le second.

Pour compléter ces observations, l'expérience a été répétée dans des conditions de fidélité intermédiaire (4 fois durant 4 jours indépendants). La FIGURE 5.9 présente graphiquement les résultats obtenus.

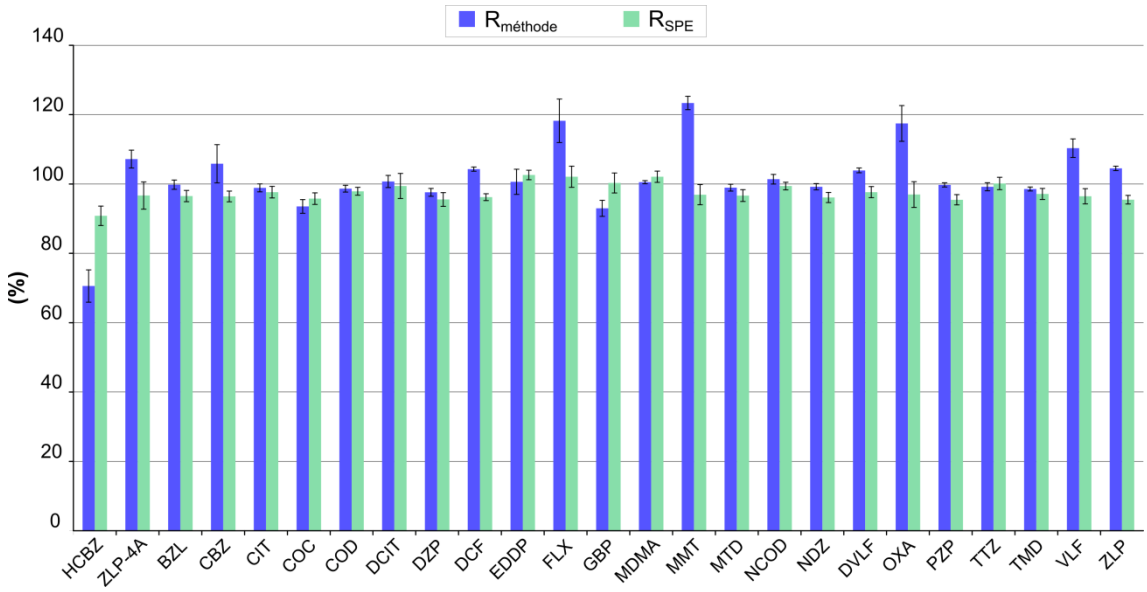


FIGURE 5.9 – Rendements méthode et taux de récupération moyens dans des conditions de fidélité intermédiaires (4 jours x 4 échantillons)

Dans ces conditions, les rendements méthode sont en moyenne de 102% et varient entre 71% et 123% pour la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine et la mémantine respectivement. La dispersion des résultats dans les conditions de l'étude est en moyenne de 4% et peut aller jusqu'à 13 % comme pour la fluoxétine par exemple. Les taux de récupération sont compris entre 91% pour la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine et 103% pour l'EDDP. La dispersion de ces rendements est quant à elle inférieure à 8% pour tous les composés. Ces observations confirment le fait que les rendements méthodes qu'ils soient dans le sens d'un (faible) sous ou d'un sur – dosage sont dus au procédé de quantification. C'est pourquoi, les valeurs des rendements méthode sont utilisées afin de corriger les concentrations calculées des échantillons environnementaux comme le décrit le modèle mathématique dans le paragraphe 2.5.

Le niveau de performance démontré dans des conditions de fidélité intermédiaire est adapté aux objectifs de la méthode. Concernant l'étape de préparation de l'échantillon, ceux-ci consistaient en l'obtention de taux d'extraction élevés accompagnés de faibles dispersions. En cela et au regard de l'état de l'art, les résultats obtenus dans des conditions de fidélité intermédiaires sont très satisfaisants. En effet, d'autres méthodes développées dans le but de quantifier certains des composés analysés dans les eaux de surface font état de rendements méthodes du même ordre de grandeur. La dispersion observée sur ces rendements n'est généralement décrite que dans des conditions de répétabilité. Les rendements de 88 à 113% avec des écart-type de répétabilité allant de 1 à 11% ont par exemple été obtenus pour la cocaïne, la benzoylecgonine, la MDMA, la codéine, la méthadone,

l'EDDP, le tramadol, le diazépam, la fluoxétine et la venlafaxine. A titre de comparaison, un rendement méthode de 205% et une répétabilité de 5% ont été observés pour l'oxazépam dans une méthode multi-résidus SPE-UPLC-MS² utilisant les même phases d'extraction et de séparation (Baker et al., 2011a). Avec une phase d'extraction différente, des rendements compris entre 88 et 116% et des écart-types de répétabilité entre 2 et 10% ont également été obtenus pour la codéine, le diclofénac, la fluoxétine, la carbamazépine, le citalopram, le diazépam et la venlafaxine (Gros et al., 2012).

3.4. Exactitude de la méthode

3.4.1. Définition

Comme expliqué dans la première partie de ce chapitre, l'exactitude de mesure de la méthode correspond à l'écart entre les valeurs mesurées et la valeur « vraie » ou de référence. L'évaluation de l'exactitude de la méthode induit une composante liée à la justesse et une autre liée à la fidélité. L'évaluation de l'exactitude s'effectue par rapport à des valeurs qui servent de référence. Celles-ci peuvent être fournies par un MRC, la moyenne de valeurs mesurées selon la méthode de référence, par l'ajout d'analyte dans une matrice représentative du domaine d'application ou encore par une valeur consensuelle d'un EIL (NF T90-210, 2009). En l'absence de MRC disponible, les étalons analytiques cités au paragraphe 2.3 ont été utilisés comme matériaux de référence.

Un triplicat d'échantillons indépendants de 500 mL d'eau d'Evian® dopés à une concentration d'environ 70 ng.L^{-1} en analytes et étalons internes a été analysé en suivant le protocole dans sa totalité. Les valeurs mesurées ont ensuite été comparées aux quantités réellement introduites dans les échantillons afin de caractériser les écarts de justesse pour l'ensemble des composés. L'expérience a été reproduite dans des conditions de fidélité intermédiaire à 5 jours différents. Les écarts de justesse pour un échantillon donné ont été calculés tel que :

$$E_{justesse} = 100 \times \frac{C_{mesurée} - C_{référence}}{C_{référence}}$$

avec : $E_{justesse}$ l'écart de justesse (%)
$C_{mesurée}$ la concentration mesurée en analyte dans l'échantillon (ng.L^{-1})
$C_{référence}$ la concentration de référence en analyte dans l'échantillon (ng.L^{-1})

3.4.2. Résultats

La FIGURE 5.10 présente les résultats observés pour l'ensemble des composés analysés et leur dispersion sur un triplicat analysé à 5 jours différents. Chaque échantillon a été préparé de manière indépendante en dopant de l'eau d'Evian® à environ 70 ng.L^{-1}. Les écarts de justesse ont été observés par rapport à un écart maximum acceptable fixé à 10%.

Les biais moyens observés sont compris entre -4% et 1%. Sur les 25 molécules étudiées, 15 présentent un biais moyen positif et 10 un biais négatif. La répartition de

ces valeurs peut donc être considérée comme aléatoire ce qui indique l'absence d'effet systématique. Les écarts-types de fidélité intermédiaire sont quant à eux compris entre 1% et 9%. En considérant l'ensemble de ces résultats en terme de justesse et de fidélité avec une tolérance de 10%, l'exactitude de la méthode a été démontrée pour l'ensemble des analytes considérés.

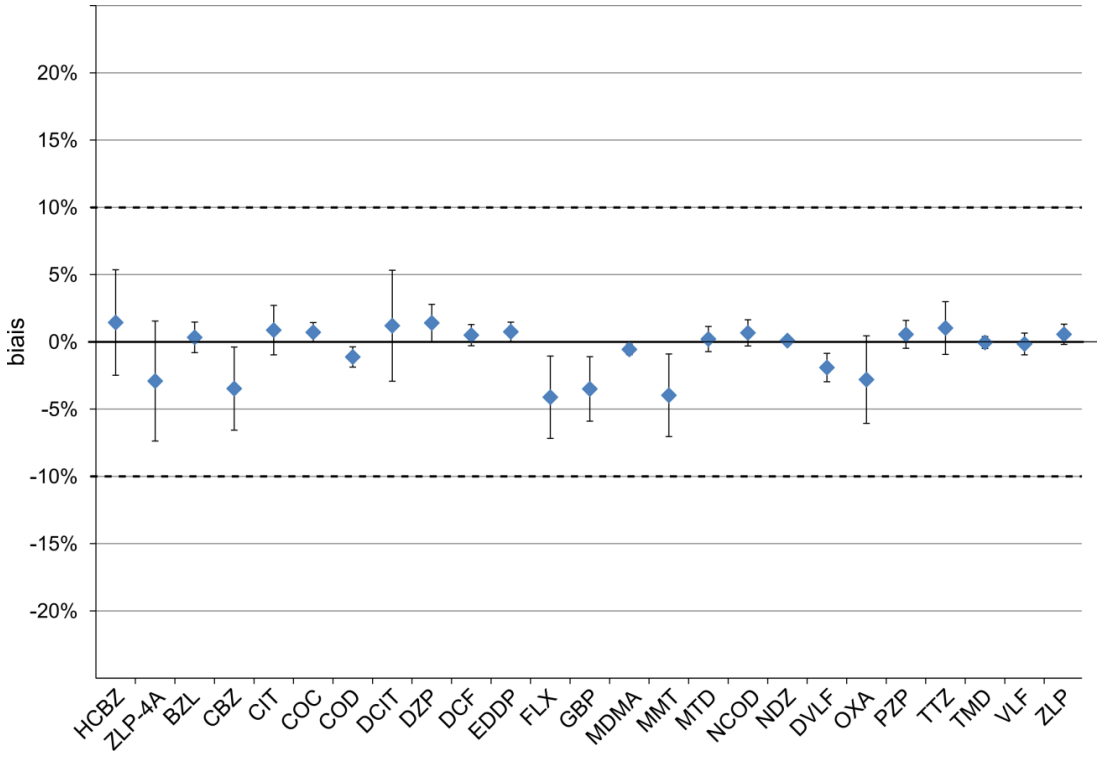


FIGURE 5.10 – Biais de justesse et dispersion observés pour l'ensemble des analytes dans des conditions de fidélité intermédiaires (5 jours x 3 échantillons)

Les objectifs fixés sont donc atteints par rapport aux performances de la méthode développée. Par ailleurs, les résultats obtenus sont comparables à l'état de l'art dans ce domaine. Dans une méthode validée selon la norme NF-90210, Idder *et al.* ont observé des écarts de justesse dans des conditions de fidélité intermédiaire compris entre -4 et +6% pour la carbamazépine, le diazépam, le diclofénac et l'oxazépam dans une eau de surface dopée à 50 ng.L^{-1}. Dans ces conditions les écarts types relatifs étaient alors de l'ordre de 10 à 15% (Idder, 2012; Idder et al., 2013).

4. Evaluation des d'incertitudes

4.1. Stratégie

La norme ISO 11352 sur l'estimation de l'incertitude de mesure basée sur des données de validation et de contrôle qualité dans le domaine de qualité de l'eau décrit principalement 3 démarches d'estimation des incertitudes (ISO 11352, 2012).

La première approche s'appuie une description mathématique de la méthode d'analyse afin d'identifier chaque source d'incertitude. Il s'agit de la méthode de référence internationale du GUM (Guide for Uncertainty Measurement). La seconde approche par cartes de contrôle de l'étendue estime la variabilité des résultats mesure au sein d'un laboratoire obtenu en répétant régulièrement l'analyse. Enfin, la troisième approche utilise des résultats obtenus aux essais interlaboratoires.

La stratégie adoptée pour déterminer les incertitudes peut être décomposée en plusieurs niveaux. En premier lieu, l'incertitude de la méthode au niveau du laboratoire a été évaluée par l'approche définie par le GUM. Par la suite, la mise en œuvre du plan d'échantillonnage spécifique a permis de déterminer l'incertitude liée à cette étape. Enfin, l'incertitude de la méthode incluant l'échantillonnage a été obtenue par l'association de ces incertitudes de différentes natures.

4.2. Evaluation de l'incertitude laboratoire

Le guide pour l'expression de l'incertitude ou GUM (Guide to the expression of Uncertainty in Measurement) décrit une méthode pour le calcul d'un résultat avec son incertitude de mesure associé (GUM - JCGM, 2008). Celle méthode se décompose en 4 étapes :

- évaluer les incertitudes-types sur les grandeurs d'entrée du modèle
- évaluer les covariances associées à toutes les estimations corrélées
- déterminer l'incertitude-type composée du résultat
- multiplication par un facteur d'élargissement

4.2.1. Evaluation des incertitudes type des grandeurs d'entrée du modèle et des covariances des grandeurs corrélées

Le mesurande, c'est-à-dire la concentration en analyte dans un échantillon d'eau est décrit par un modèle mathématique définit par l'EQUATION 5.1 (paragraphe 2.5). Celui-ci comprend les grandeurs utilisées pour accéder au résultat du processus de mesure auquel ont été ajoutées une correction de justesse (R) et de fidélité (f_{fid}) ainsi que l'incertitude du modèle d'étalonnage ($f_{étal}$).

Le diagramme d'Ishikawa ou diagramme de causes et effets permet de rendre compte graphiquement de l'ensemble des paramètres pouvant influer sur le résultat de mesure. De façon typique, le diagramme d'Ishikawa s'organise autre de cinq points (les 5 M) : moyen (équipement), milieu (environnement), méthode (mode opératoire), matière (matériau utilisé) et main-d'œuvre (intervention humaine). Pour appliquer cette approche très générale au cas présent, il est également possible de présenter ce diagramme selon les paramètres définis dans le modèle et dont chacun contribue à

l'incertitude de mesure. Ainsi, la FIGURE 5.11 présente de façon détaillée la totalité des sources d'incertitude.

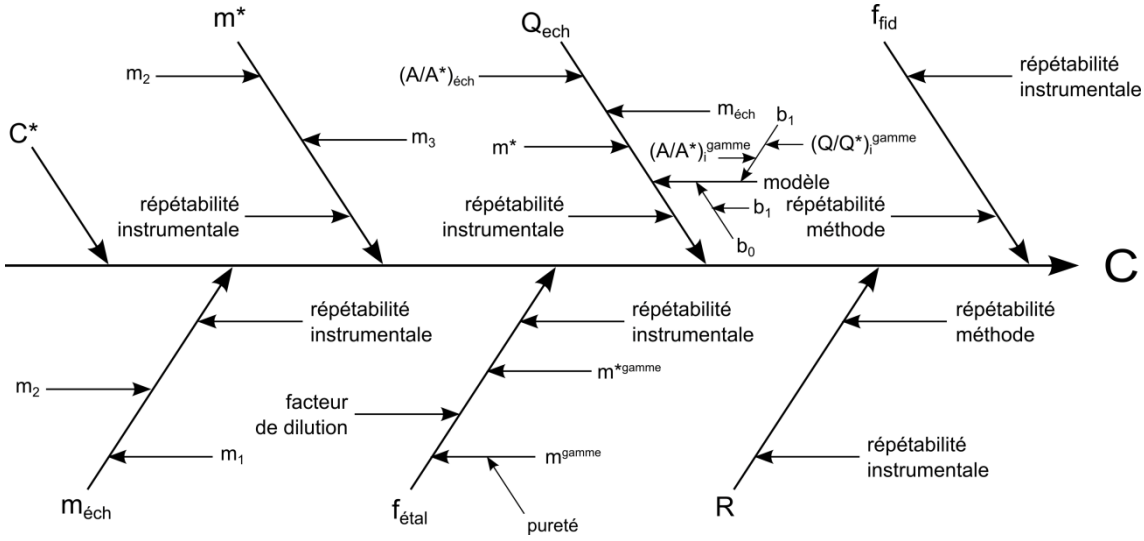


FIGURE 5.11 – Diagramme d'Ishikawa permettant de visualiser l'ensemble des facteurs pris en compte dans le calcul de la concentration en analyte dans un échantillon

L'évaluation de l'incertitude peut être issue de résultats expérimentaux ou d'un postulat. Aussi l'évaluation de l'incertitude par un processus expérimental est dit de type A. Celle évaluée par une valeur prédéfinie est dite de type B. Pour chacune des sources possibles, le TABLEAU 5.11 synthétise les différentes sources d'incertitude et leur mode de calcul.

source d'incertitude	type	incertitude-type $u(x_i)$	mode de calcul de $u(x_i)$
pesée de la masse m_i	B	$u(m_i)$	$u(m_i)$ établie lors de l'étalonnage de la balance
Q_{ech}	A	$\sigma(\varepsilon_i)\times\sqrt{\frac{1}{n}+\frac{(x-\bar{x})^2}{\sum(x_i-\bar{x})^2}}$	incertitude de la valeur déterminée par régression linéaire à partir des observations (x_i) et l'écart-type issu des résidus (ε_i) du modèle tel que : $\sigma(\varepsilon_i)=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(y_i-\hat{y}_i)^2}{n-2}}$
rendement méthode R	A	$\frac{\sigma(R_i)}{\sqrt{n}}$	écart type issu des n rendements méthode (R_i) de témoins positifs indépendants
$f_{étal}$	A	$u(f_{étal})$	$u(f_{étal})$ calculé à partir de l'incertitude la pureté P des pesées liées aux différentes dilutions successives
f_{fid}	A	$\frac{\sigma(C_i)}{\sqrt{n}}$	écart type issu des n concentrations (C_i) de témoins positifs indépendants de même concentration
C*	B	-	-
pureté P de l'étalon dans les solutions utilisées pour la gamme d'étalonnage	B	$u(P)$	u(P) fournie sur le certificat d'analyse
	B	$(1-P)/\sqrt{3}$	loi uniforme de demi-étendue (1-P) (lorsque l'incertitude n'est pas fournie sur le certificat d'analyse)

TABLEAU 5.11 – Estimation des incertitudes-types pour chacune des grandeurs d'entrée du modèle

Aucune incertitude type n'a été associée à la concentration en étalon interne marqué C*. La même solution étant utilisée pour les points de gamme et pour doper les échantillons, la contribution de l'incertitude liée à cette grandeur a été négligée dans l'incertitude totale.

Parmi les paramètres utilisés indirectement dans l'équation mathématique, les coefficients de régression linéaire b_1 et b_0 sont corrélés puisque b_0 est déduit de b_1 lui-même déduit des valeurs x_i et y_i des solutions étalon utilisées pour construire la courbe d'étalonnage. La covariance entre b_1 et b_0 a donc été prise en compte dans l'expression de l'incertitude du rapport de quantité modélisée reportée dans en TABLEAU 5.11 en suivant la loi de propagation des incertitudes décrite dans le paragraphe suivant. Le protocole adopté n'induit pas de corrélation entre les valeurs d'entrées liées aux pesées successives réalisées sur une même balance. En effet entre chaque répétition, la balance revient à zéro, chacune d'entre elle est donc considérée comme indépendante. Le terme de covariance est donc considéré comme négligeable. Toutes les autres grandeurs d'entrée ne sont pas corrélées, leur covariance est donc nulle.

Enfin, l'incertitude type liée au terme de fidélité de la méthode sera calculée à partir de témoins positifs analysés dans des conditions de répétabilité. Ce choix est justifié par l'observation, au fil de son utilisation, de l'impact des performances du système analytique sur celles de la méthode afin de représenter plus justement la réalité expérimentale.

4.2.2. Propagation des incertitudes-types sur les grandeurs d'entrée et expression de l'incertitude élargie

La propagation des incertitudes type de chaque grandeur d'entrée permet de déterminer l'incertitude composée sur le résultat de mesure selon la loi suivante (GUM - JCGM, 2008) :

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^{N}\left(\frac{\partial \mathrm{f}}{\partial \mathrm{x_i}}\right)^2 u^2(x_i) + 2\sum_{i=1}^{N-1}\sum_{j=i+1}^{N}\left(\frac{\partial \mathrm{f}}{\partial \mathrm{x_i}}\right)\left(\frac{\partial \mathrm{f}}{\partial \mathrm{x_j}}\right)u(x_i, x_j)}$$

EQUATION 5.2 – Loi générale de propagation des incertitudes

avec : $u_c(y)$ l'incertitude composée de y

f la fonction mathématique décrivant y

X_i un paramètre de l'équation de y

$u(x_i, x_j)$ la covariance estimée associée à X_i et x_j

Après avoir calculé l'incertitude composée, le résultat peut être exprimé avec son incertitude élargie représentant *« un intervalle à l'intérieur duquel on puisse espérer voir se situer une large fraction de la distribution des valeurs qui pourraient être raisonnablement attribuées au mesurande »* (GUM - JCGM, 2008). L'incertitude élargie s'obtient ainsi en multipliant l'incertitude composée par un facteur d'élargissement :

$$U(y) = k\, u_c(y)$$

avec : $U(y)$ l'incertitude élargie sur y

$u_c(y)$ l'incertitude composé de y

k le facteur d'élargissement

Selon les exigences normatives nationales (ISO 11352, 2012) et internationales (GUM - JCGM, 2008), k=2 ce qui correspond à un intervalle de confiance de 95% environ sur une population suivant une loi normale. En effet cette valeur est déterminée à partir du t de Student à 95% de confience (α=0,05) qui est égale à 1,962 pour un grand nombre de mesure n.

4.3. Evaluation de l'incertitude d'échantillonnage milieu

Des prélèvements ponctuels ont été effectués dans la Seine le 17 septembre 2013 au niveau du pont de Tolbiac. Des échantillons ont été prélevés depuis la rive gauche et depuis la rive droite par deux préleveurs indépendants qui ont effectué deux prélèvements chacun. Ces prélèvements ont ensuite été divisés en deux. Pour ce site un total de 16 échantillons a donc été mesuré comme indiqué sur la FIGURE 5.12.

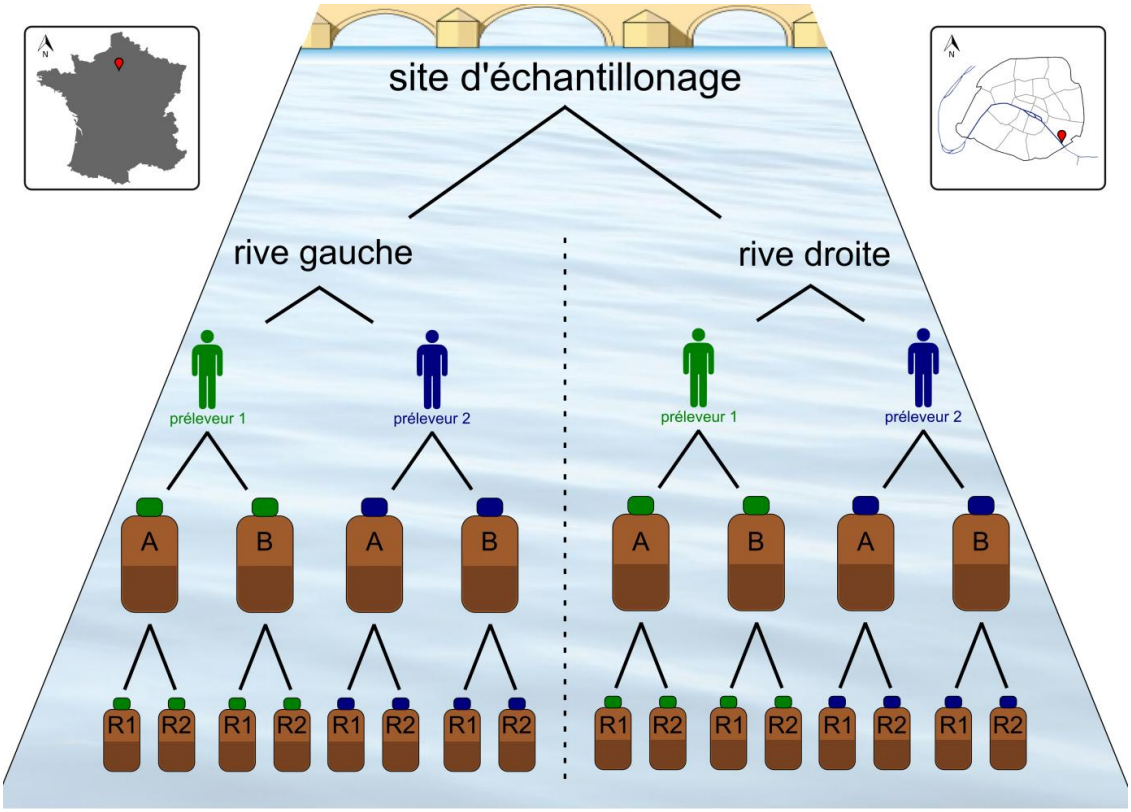


FIGURE 5.12 – Plan d'échantillonnage mis en œuvre au niveau du pont de Tolbiac
*(2 rives * 2 préleveurs * 2 échantillons * 2 répétitions)*

Ainsi, les écart-types des concentrations mesurées dans ces échantillons a permis de déterminer l'incertitude liée à l'échantillonnage :

$$u_{\text{échantillonnage}} = \sqrt{\sigma^2_{échantillonnage}}$$

avec : $\sigma_{échantillonnage}$: la variance des concentrations des 16 échantillons prélevés sur le même site

Cette stratégie de prélèvements constitue une application de la méthode des doubles afin d'estimer expérimentalement les incertitudes liées à l'échantillonnage (EURACHEM/CITAC, 2007). Ainsi, l'évaluation de la répétabilité à différents niveaux par l'analyse de variance permet d'identifier les effets préleveur et rive dans la variabilité micro-spatiale du site d'étude.

L'évaluation de l'incertitude d'échantillonnage permet par la suite la détermination de l'incertitude totale sur la mesure de la concentration en analyte d'échantillons environnementaux.

4.4. Evaluation de l'incertitude de mesure totale

L'expression de la concentration mesurée en un point s'écrit comme la valeur vraie de l'échantillon (C_{vraie}) auxquelles s'ajoute une erreur liée au processus analytique (ε_{labo}) et une erreur liée à l'échantillonnage ($\varepsilon_{échantillonnage}$) tel que :

$$C_{mesurée} = C_{vraie} + \varepsilon_{labo} + \varepsilon_{échantillonnage}$$

ainsi,

$$u_{mesure} = \sqrt{u^2_{labo} + \sigma^2_{échantillonnage}}$$

avec : - u^2_{labo} l'incertitude de la méthode d'analyse sur la concentration

- $\sigma^2_{échantillonnage}$ la variance des concentrations des 16 échantillons prélevés sur le même site

5. Application de la méthode de référence dans l'environnement

La méthode de référence développée a été appliquée aux 16 échantillons environnementaux prélevés sur un site d'étude situé en Seine au niveau du pont de Tolbiac. Les résultats de mesure ont permis d'évaluer l'apport de différents facteurs d'incertitudes. De plus, 2 échantillons supplémentaires ont été prélevés en aval du pont de Tolbiac au niveau de l'île de la Cité et du pont du Garigliano, à environ 3,5 km et 10,5 km respectivement.

5.1. Occurrence des composés recherchés sur le site de Tolbiac

5.1.1. Résultats

Les concentrations en analyte dans les échantillons ont été déterminées en utilisant les données des droites d'étalonnage, les masses des échantillons et les quantités d'étalons internes introduites et le rendement d'extraction selon la formule décrite dans le paragraphe 2.5.

Les concentrations mesurées pour l'ensemble des composés dans les 16 échantillons prélevés au niveau site de Tolbiac sont présentées graphiquement en FIGURE 5.13 et détaillées en ANNEXE 5.2.

La fréquence de détection dans l'ensemble des échantillons analysés était de 100% pour toutes les molécules recherchées à l'exception du tétrazépam pour un échantillon. La cocaïne, la fluoxétine et le zolpidem étaient présents dans les échantillons à des concentrations inférieures à la LQ. Le diazépam a, quant à lui, été mesuré à des concentrations voisines de sa LQ dont 2 échantillons sur 16 étaient inférieurs à cette limite.

Les concentrations mesurées étaient comprises entre 0,35 $ng.L^{-1}$ pour la MDMA et 187,30 $ng.L^{-1}$ pour la gabapentine. La majorité des composés (15/25) a été quantifiée à des concentrations inférieures à 5 $ng.L^{-1}$. Seules 2 molécules ont été mesurées entre 5 et 10 $ng.L^{-1}$: l'acide zolpidem 4-phenyl carboxylique et la codéine. 6 autres analytes ont été caractérisés à des concentrations pouvant aller jusqu'à 50 $ng.L^{-1}$. Parmi eux figurent la carbamazépine et son métabolite la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine, la venlafaxine et son métabolite l'O-desmethylvenlafaxine ainsi que le diclofénac et l'oxazépam, de loin la plus présente au sein de la famille des benzodiazépines. Le tramadol a, quant à lui, été mesuré à 60 $ng.L^{-1}$ environ. Enfin, la gabapentine se démarque nettement de tous les autres composés avec des concentrations supérieures aux alentours de 170 $ng.L^{-1}$.

Bien qu'ils soient supérieurs, les niveaux d'occurrence constatés en Seine au niveau du site de Tolbiac sont du même ordre de grandeur que les niveaux rapportés récemment en France dans les bassins de l'Isle, de la Dordogne et de la Drone. Durant l'année 2011, les campagnes de mesure conduites avaient alors mis en évidence des fréquences de détection de 81% pour la carbamazépine et de 75% environ pour le diclofénac et l'oxazépam. Les niveaux médians de concentrations étaient d'environ 10 $ng.L^{-1}$ pour la carbamazépine et le diclofénac et d'environ 20 $ng.L^{-1}$ pour l'oxazépam. Les concentrations maximales mesurées étaient en revanche supérieures à celles

mesurées dans la Seine avec respectivement 46, 57 et 89 ng.L^{-1} pour la carbamazépine, le diclofénac et l'oxazépam (Idder, 2012).

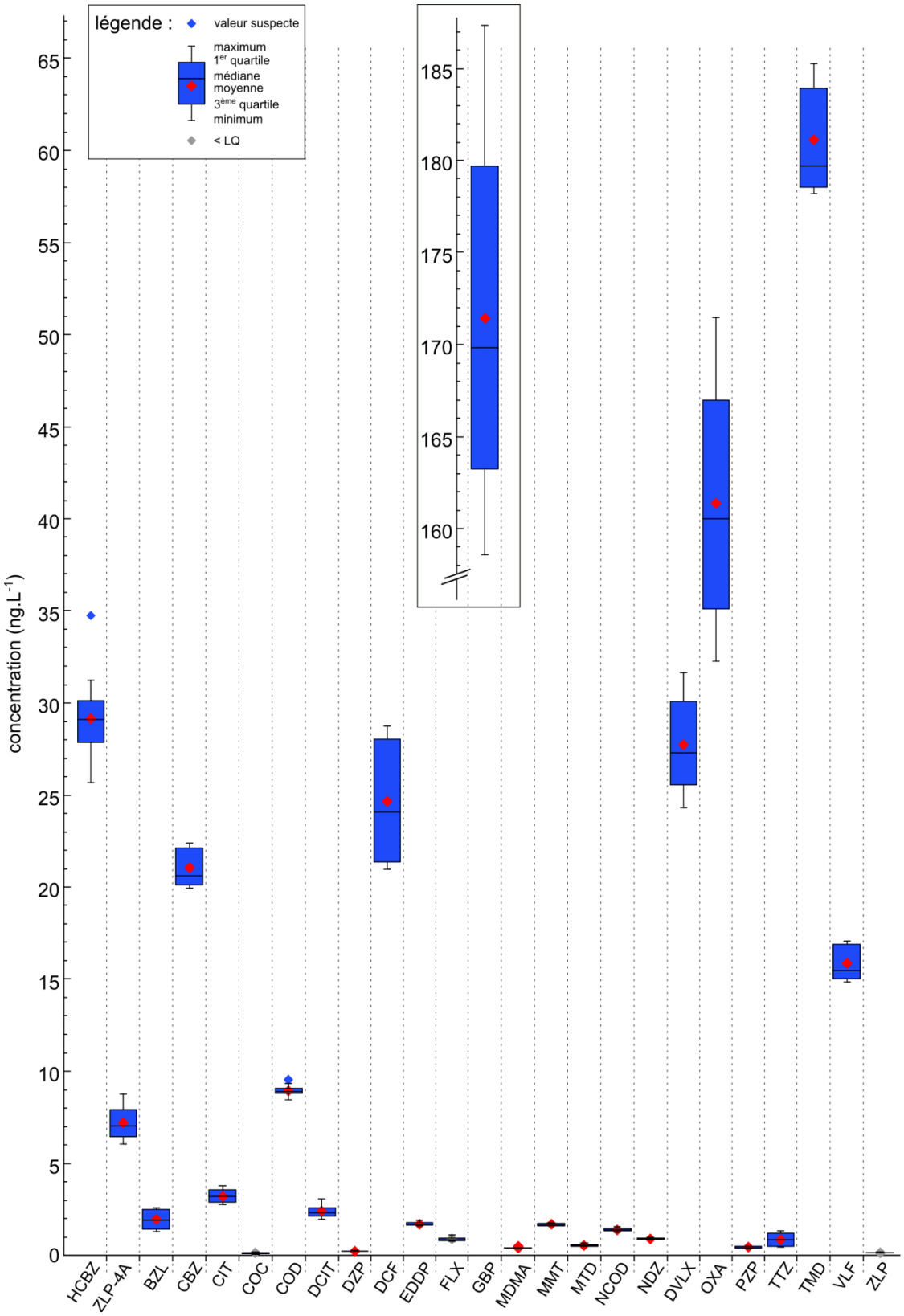


FIGURE 5.13 – Concentrations mesurées sur le site de Tolbiac (n=16)

Des campagnes de mesure récentes conduites à l'étranger ont également mis en évidence des occurrences comparables à celles observées pour certains des composés étudiés. En Espagne, Gros *et al.* ont observé des concentrations en cabamazépine (8-14 $ng.L^{-1}$) en codéine (16 à 18 $ng.L^{-1}$), en citalopram (5-9 $ng.L^{-1}$) et en venlafaxine (13-45 $ng.L^{-1}$) dans le fleuve Ter (Gros et al., 2012). Aux Etats-Unis, la benzoylecgonie, la carbamazépine ont été détectées dans la baie de San Francisco avec une fréquence de 100%. Celle-ci était de 80% pour la cocaïne et de 20% pour le diazépam. Les niveaux de concentration médian étaient d'environ 5 $ng.L^{-1}$ pour la benzoylecgonine, 15 $ng.L^{-1}$ pour la carbamazépine, 0,6 $ng.L^{-1}$ pour la cocaïne et inférieure à la LQ (≈0,3 $ng.L^{-1}$) pour le diazépam (Klosterhaus et al., 2013). Enfin, aux Royaumes-Unis, le suivi annuel de la contamination d'une importante rivière (non citée par les auteurs) révèle des concentrations médianes plus élevées pour la cocaïne (0,3-3,7 $ng.L^{-1}$), la benzoylecgonine (0,7-18,3 $ng.L^{-1}$) et la MDMA (0,5-5,8 $ng.L^{-1}$) (Baker et al., 2013). La même constatation est faite pour certains psychotropes licites dont la codéine (11,7-83,7 $ng.L^{-1}$), la norcodéine (3,1-9 $ng.L^{-1}$), la méthadone, l'EDDP, le tramadol (6,2-172,6 $ng.L^{-1}$). L'impact par des rejets de stations d'épuration sur la zone étudiée n'est certainement pas étranger à la différence observée dans les niveaux de concentration. Toutefois, une différence dans les habitudes de consommation, ne peut pas non plus être exclue, à titre d'exemple les concentrations médianes de l'antidépresseur venlafaxine (1,1-28,8 $ng.L^{-1}$) et de l'anxiolytique oxazépam (2,4-10,3 $ng.L^{-1}$) sont considérablement inférieures à celles mesurées en Seine.

5.1.2. Incertitude laboratoire

Les incertitudes laboratoire sur les concentrations mesurées sur le site de Tolbiac ont été évaluées à partir de l'échantillon dont la concentration était la plus proche de la valeur moyenne. Selon la méthode GUM, les incertitudes-types de chaque valeur d'entrée du modèle ont été prises en compte (paragraphe 4.2.1). Le détail du calcul de l'incertitude composée par le développement de l'EQUATION 5.2 est fourni en ANNEXE 5.1.

Par convention, l'incertitude sur le résultat est exprimée avec 2 chiffres significatifs. L'ensemble des résultats pour les composés quantifiés est affiché en TABLEAU 5.12. Les incertitudes laboratoires sur l'ensemble des mesures sont également détaillées en ANNEXE 5.2.

Les incertitudes laboratoires obtenues dans ces conditions sont inférieures à 10% pour la majorité des composés et même inférieures à 5% pour 9 d'entre eux dont la carbamazépine, l'EDDP et la venlafaxine dont les incertitudes respectives sont de 2%. Celles-ci peuvent atteindre 16 et 17 % au maximum pour le tétrazépam et le diazépam respectivement. Les niveaux de concentration étaient proches de leur LQ. Les incertitudes laboratoire pour la cocaïne, la fluoxétine et le zolpidem ne sont pas affichées car ces molécules n'ont pas pu être quantifiées dans les eaux de surface analysées.

Afin d'atteindre les objectifs recherchés, à savoir l'obtention de faibles incertitudes de mesures, la méthode de référence développée s'appuie sur la mise en œuvre d'un processus de mesure dans des conditions métrologiques. Concernant les composés étudiés, il n'existe aucune méthode de référence à laquelle puisse être comparée directement les incertitudes évaluées. Dans une méthode de référence développée pour la caractérisation de pesticides dans les eaux souterraines annonce des incertitudes de 1,4 à 6,6% pouvant aller jusqu'à 12% pour les niveaux faibles de concentration (El Mrabet, 2008). Une autre méthode, développée l'INM anglais (LGC)

visant à caractériser 5 estrogènes synthétiques dans des eaux de surfaces rapporte des incertitudes laboratoire comprises entre 4 et 12,5%. Les ordres de grandeur des incertitudes obtenues pour la caractérisation d'autres polluants dans le milieu aquatique par des méthodes de référence correspondent à ceux observés pour la méthode développée. Celle-ci répond donc aux objectifs recherchés.

	$C \pm U_{laboratoire}$ en $ng.L^{-1}$	$U_{laboratoire}$ en %
HCBZ	27,6 ± 2,3	8
ZLP-4A	7,99 ± 0,96	12
BZL	2,324 ± 0,085	4
CBZ	20,09 ± 0,41	2
CIT	3,07 ± 0,18	6
COD	9,07 ± 0,37	4
DCIT	2,40 ± 0,23	10
DZP	0,24 ± 0,041	17
DCF	28,50 ± 0,74	3
EDDP	1,623 ± 0,039	2
GBP	176 ± 15	9
MDMA	0,368 ± 0,017	5
MMT	1,59 ± 0,12	8
MTD	0,515 ± 0,017	3
NCOD	1,47 ± 0,12	8
NDZ	0,837 ± 0,029	3
DVLF	26,4 ± 1,3	5
OXA	44,0 ± 5,0	11
PZP	0,393 ± 0,027	7
TTZ	0,84 ± 0,14	16
TMD	62,6 ± 1,9	3
VLF	16,29 ± 0,35	2

TABLEAU 5.12 – Concentration et incertitudes laboratoire élargies (k=2) pour 22 composés quantifiés dans l'échantillon le plus représentatif du site d'étude

Dans une méthode développée selon les procédures définies dans la norme 17025, Boleda *et al.* ont récemment publié une évaluation d'incertitudes laboratoire pour la caractérisation de composés pharmaceutiques dans les eaux potables et de surface. L'approche choisie par les auteurs approxime l'incertitude de mesure dans des échantillons dopés à 100 $ng.L^{-1}$ en considérant uniquement les écart-types relatifs dans des conditions de répétabilité et de fidélité intermédiaire ainsi que l'incertitude liée à la concentration de consigne utilisée dans les développements. Dans ces conditions, l'incertitude élargie sur des échantillons d'eau de potable et de surface dopés à 100 $ng.L^{-1}$ est de 12% pour le diclofénac. Le poids principal étant la composante liée à la répétabilité pour les échantillons d'eau de surface (Boleda et al., 2013).

En 2013, dans une méthode validée selon les critères de la norme 90-210, Idder *et al.* ont évalué les incertitudes de mesure pour la mesure de la carbamazépine, du diclofénac, du diazépam et de l'oxazépam dans des eaux de surfaces dopées à 50 $ng.L^{-1}$. Dans ces conditions, les incertitudes laboratoire étaient de 35% pour l'ensemble des composés (Idder et al., 2013).

Les participants à l'EIL sur les résidus de médicament dans les eaux ont estimé leur incertitude de mesure laboratoire aux alentours de 25% pour une concentration de l'ordre de 100 $ng.L^{-1}$. Toutefois, selon les organisateurs de l'essai, il semblerait que cette incertitude soit sous-estimée pour un tiers des participants (Amalric et al., 2012).

La mise en œuvre de la méthode de référence et de l'évaluation détaillée des incertitudes laboratoires a donc permis d'atteindre des niveaux d'incertitudes inférieures à ceux reportés par dans d'autres méthodes. De plus cette évaluation a été appliquée à des échantillons naturels non dopés et donc à des concentrations environnementalement pertinentes.

La FIGURE 5.14 présente le poids des différentes composantes de l'incertitude laboratoire pour une sélection de composés. Ces molécules ont été choisies pour leur représentativité en termes de classes chimiques étudiées et de compositions possibles d'incertitude laboratoire. Les incertitudes types de rendement et de fidélité ont toutes les deux été déterminées dans des conditions de répétabilité (n=4).

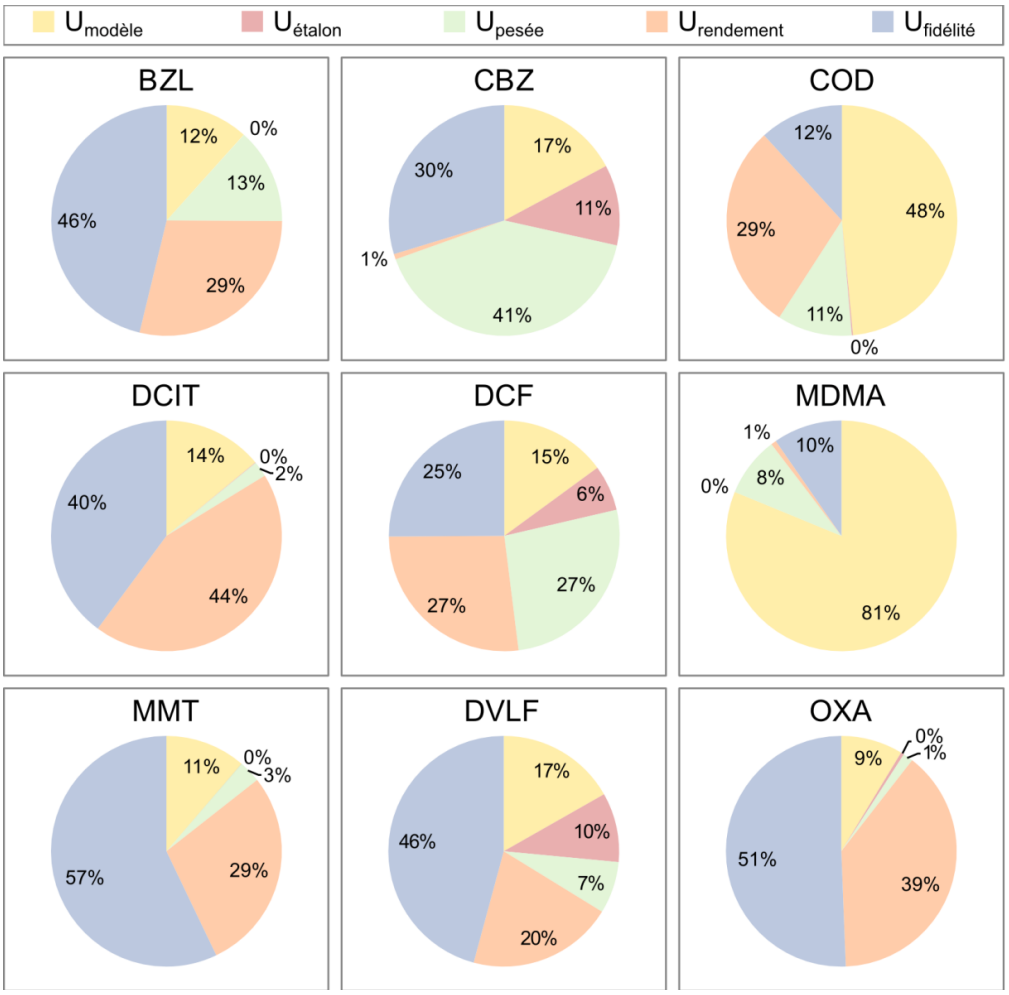


FIGURE 5.14 – Poids exprimé en % des différentes composantes dans l'incertitude laboratoire pour une sélection de composés

Pour la benzoylecgonine, la mémantine, l'*O*-desmethylvenlafaxine et l'oxazépam, la contribution majeure au budget d'incertitude laboratoire est due à la composante de fidélité qui représente entre 46 et 57 % de l'incertitude totale. De plus, les composantes d'incertitude liées au rendement méthode sont comprises entre 20 et 39 %. Cette répartition dans laquelle les incertitudes liées au rendement et à la fidélité représentent entre 60 et 90% du budget globale est la plus fréquemment rencontrée dans l'ensemble des composés étudiés.

Pour la codéine et la MDMA, la principale source d'incertitude est liée au modèle d'étalonnage avec respectivement 48 et 81% du budget total. Pour la codéine, cela s'explique par le faible rôle joué par les composantes du rendement méthode et de fidélité : la dispersion de ces résultats était de l'ordre de 1%. Pour la MDMA, la part d'incertitude apportée par le modèle d'étalonnage est due au fait que le composé soit présent dans les échantillons à une concentration proche de la LQ, zone dans laquelle le modèle et moins bien défini.

Le diclofénac présente, quant à lui, une répartition équilibrée des différentes composantes de l'incertitude laboratoire. Le poids des incertitudes du rendement méthode, de la fidélité et des pesées liées à la prise d'essai et au dopage par les étalons internes marqués est de 25% environ pour chacun d'entre eux. Pour la carbamazépine, la composante principale de l'incertitude laboratoire est liée aux pesées (47%). L'augmentation de la part liée aux pesées témoigne de performances méthode optimales et d'une incertitude totale faible. Il en est de même pour la part liée à l'incertitude sur la concentration des étalons dans les points de gamme définissant le modèle d'étalonnage. Elle est négligeable (<1%) pour la grande majorité des analytes étudiés sauf les molécules comme la carbamazépine, le diclofénac et l'*O*-desmethylvenlafaxine dont les incertitudes laboratoires sont comprises entre 2 et 5%.

5.2. Incertitudes échantillonnage

L'étude des de la dispersion des concentrations mesurées au niveau du site de Tolbiac a ensuite permis de déterminer les incertitudes liées à l'échantillonnage. L'ensemble des résultats obtenus pour les composés quantifiés est affiché en TABLEAU 5.13.

	$U_{échantillonnage}$ en %
HCBZ	15
ZLP-4A	24
BZL	58
CBZ	10
CIT	22
COD	7
DCIT	27
DZP	9
DCF	28
EDDP	12
GBP	11
MDMA	13
MMT	9
MTD	17
NCOD	12
NDZ	7
DVLF	17
OXA	32
PZP	24
TTZ	83
TMD	9
VLF	11

TABLEAU 5.13 – Incertitudes élargies liées à l'échantillonnage (k=2) exprimée en % de 22 composés quantifiés dans des eaux de surface sur le site d'étude

Les incertitudes liées à l'échantillonnage varient selon les analytes entre 7 et 83 %. Elles représentent environ 10% de la valeur des concentrations mesurées pour la moitié des molécules quantifiées (11/22) et environ 20 à 30% pour un peu plus d'un tiers d'entre elles (8/22). Enfin pour la benzoylecgonine et le tétrazépam mesurés sur le site d'étude à des concentrations moyennes respectives de 1,95 et 0,82 ng.L^{-1}, les incertitudes liées à l'échantillonnage étaient beaucoup plus importantes. Elles représentent pour ces composés 58 et 83% de la valeur des concentrations mesurées. Cette hétérogénéité suppose un effet de l'échantillonnage plus important sur certaines molécules. Celui-ci peut être visualisé par l'observation de la distribution des concentrations mesurées en fonction du préleveur et de la rive.

La FIGURE 5.15 présente la distribution des résultats de mesure sur le site de Tolbiac pour la carbamazépine, la benzoylecgonine et le diclofénac.

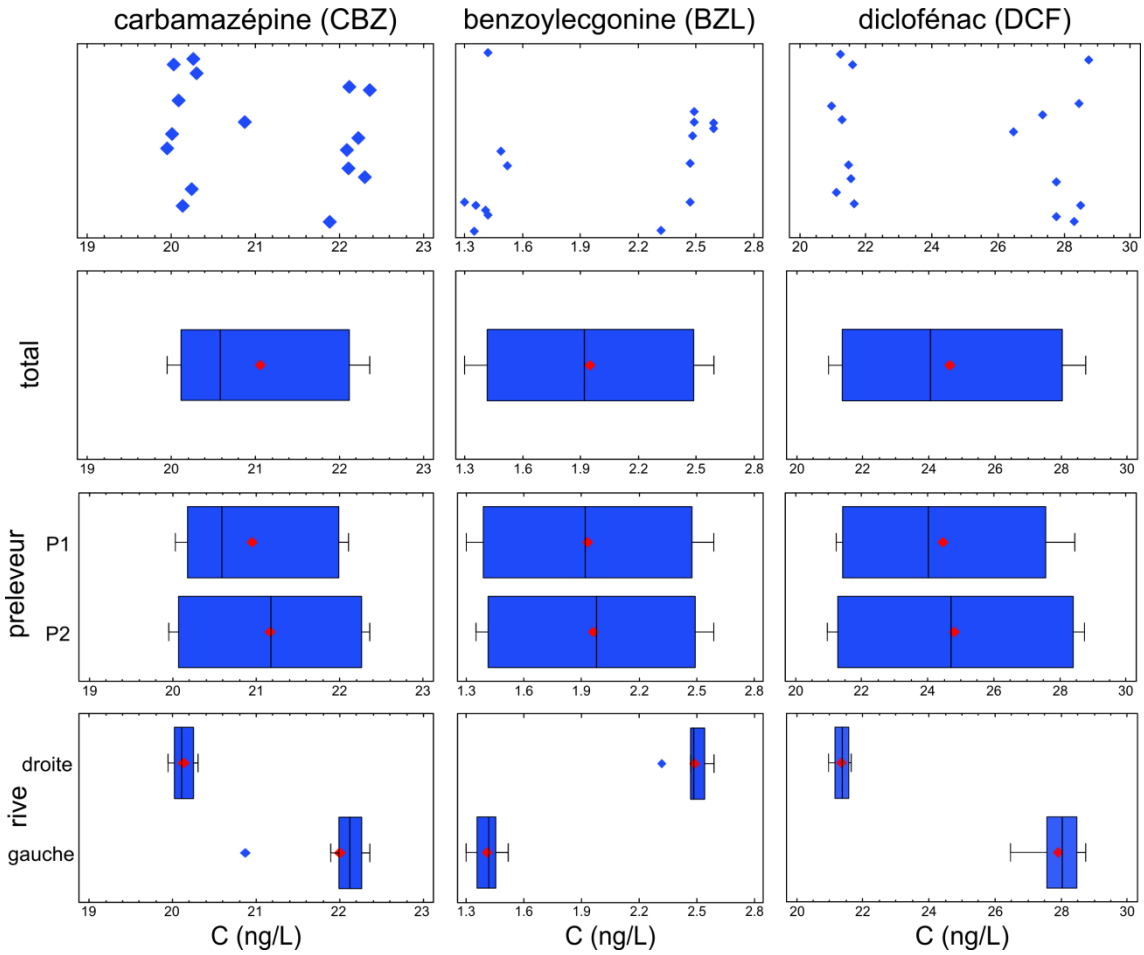


FIGURE 5.15 – Concentrations mesurées en carbamazépine, en benzoylecgonine et en diclofénac sur le site de Tolbiac en fonction du préleveur et de la rive

Pour ces 3 composés, la distribution des concentrations met en évidence l'absence d'effet lié au préleveur. Ainsi, les incertitudes échantillonnages observées pour ces composés sont très majoritairement dues à un effet rive. Celui-ci ne semble pas toutefois pas systématique, en effet les concentrations observées pour la carbamazépine et le diclofénac sont plus faibles sur la rive droite que sur la rive gauche alors qu'un effet inverse est observé pour la benzoylecgonine.

De plus, comme l'illustre la FIGURE 5.16 pour la codéine et la norcodéine, l'observation de la distribution des concentrations mesurées ne montre aucune différence significative entre les échantillons issus de la rive droite et de la rive gauche. Pour ces analytes, l'incertitude d'échantillonnage est principalement due à la disparité entre les échantillons.

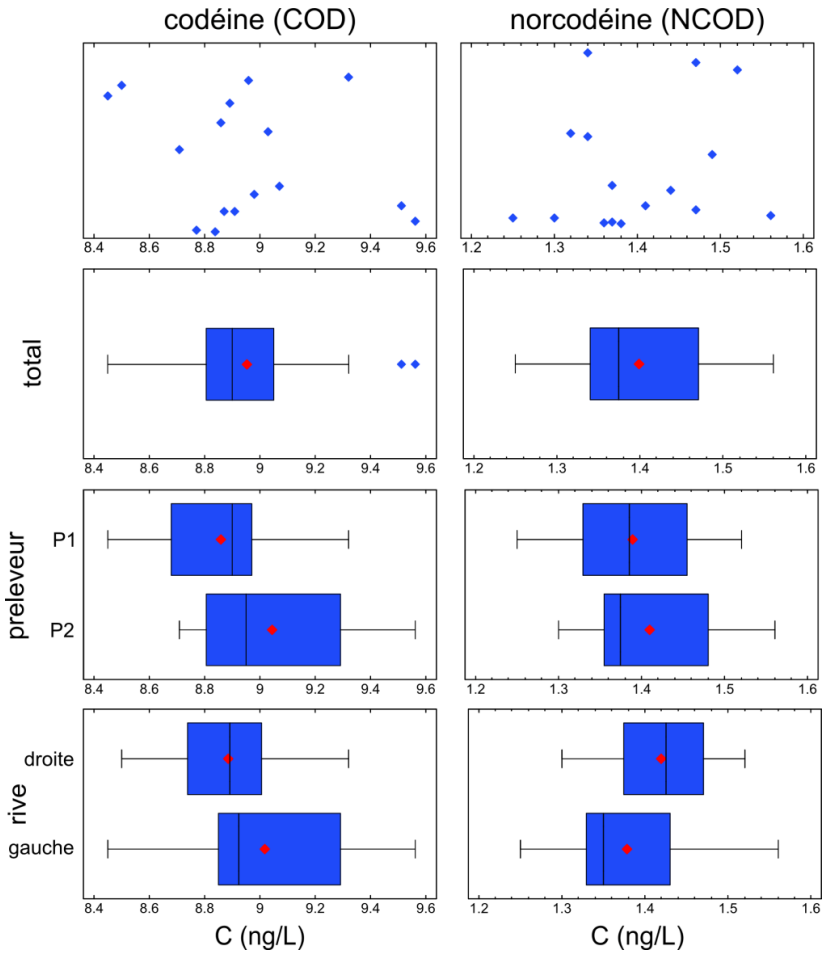


FIGURE 5.16 – Concentrations mesurées en codéine et en norcodéine sur le site de Tolbiac en fonction du préleveur et de la rive

Afin d'identifier plus clairement les sources principales d'incertitude d'échantillonnage, des tests statistiques ont été effectués sur les écart-types des concentrations mesurées à différents niveaux du plan de prélèvement sur le site d'étude. Les résultats de ces tests statistiques sont présentés dans le TABLEAU 5.14.

L'analyse des concentrations mesurées par les coefficients d'aplatissement standardisé et d'asymétrie standardisée permet de décrire la distribution des valeurs. Ils sont compris entre -2 et 2 pour l'ensemble des composés ce qui n'indique pas d'écart significatif à la normalité. L'hypothèse que les concentrations suivent une loi normale est donc vérifiée. Cela rend valide les tests statistiques concernant les écart-types. Ainsi, des tests de variance à un facteur ont été réalisés pour comparer les valeurs moyennes pour deux niveaux de préleveurs ou deux niveaux de rives.

	test de normalité			ANOVA effet préleveur ($F_{5\%}$=4,67)		ANOVA effet rive ($F_{5\%}$=4,67)	
	asymétrie	aplatissement	loi	F_{obs}	significativité	F_{obs}	significativité
HCBZ	1,19	1,43	normale	1,20	non	4,66	non
ZLP-4A	0,44	-1,08	normale	0,00	non	77,02	oui
BZL	0,01	-1,81	normale	0,01	non	752,18	oui
CBZ	0,33	-1,70	normale	0,16	non	114,37	oui
CIT	0,35	-1,34	normale	0,25	non	95,49	oui
COD	0,89	0,27	normale	1,52	non	0,71	non
DCIT	1,24	-0,13	normale	0,95	non	17,70	oui
DZP	-1,15	0,53	normale	0,45	non	2,88	non
DCF	0,10	-1,79	normale	0,04	non	550,05	oui
EDDP	0,72	-1,16	normale	0,82	non	57,25	oui
GBP	0,40	-1,08	normale	0,02	non	20,76	oui
MDMA	1,57	3,71	normale	2,15	non	0,64	non
MMT	0,90	-1,20	normale	1,23	non	22,94	oui
MTD	1,38	0,03	normale	1,15	non	24,42	oui
NCOD	0,41	-0,49	normale	0,23	non	0,93	non
NDZ	0,18	0,20	normale	0,73	non	7,41	oui
DVLF	0,20	-1,33	normale	0,01	non	76,16	oui
OXA	0,39	-1,36	normale	0,01	non	109,06	oui
PZP	0,38	-1,43	normale	0,02	non	102,76	oui
TTZ	0,41	-1,33	normale	1,10	non	2,29	non
TMD	0,60	-1,50	normale	0,68	non	59,28	oui
VLF	0,50	-1,53	normale	0,31	non	77,06	oui

TABLEAU 5.14 – Analyses de variances pour l'évaluation de l'effet préleveur et l'effet rive à 95% de confiance

La variance pour un facteur donné (préleveur ou rive) est décomposée en une composante inter-groupes et une composante intra-groupes. F_{obs} est alors le rapport de l'estimation inter-groupes par rapport à l'estimation intra-groupes. Si la valeur de probabilité pour le test F_{obs} est inférieure à 0,05 alors il y a une différence statistiquement significative entre les moyennes de concentration d'un niveau à l'autre dans un intervalle de confiance de 95%.

L'analyse des variances pour le facteur « préleveur » n'a pas mis en évidence de différences statistiques entre les échantillons issus du préleveur 1 et du préleveur 2. En revanche, l'ANOVA pour l'effet rive confirme l'existence statistique d'un effet rive pour 16 molécules sur 22. Plusieures hypothèses pourraient être avancées pour expliquer ce phénéomène comme l'existence de rejets non raccordés en amont des points de prélèvement ou encore la présence d'une traîne de la Marne encore non-homogénéisé depuis le point de confluence. Cependant, en l'absence de cartographie des rejets et de données hydrologiques appropriées, il reste difficile de conclure quant à ces hypothèses. De plus, il serait intéressant de conduire d'autres campagnes afin de confirmer ou l'infirmer l'existance de cet effet dans le temps. Néanmoins, ces résultats indiquent la prépondérance de la variabilité micro-spatiale dans l'incertitude de mesure liée à l'échantillonnage pour la majorité des composés étudiés.

5.3. Incertitudes de mesure totale dans les eaux de surface

Les différents types d'incertitudes calculées précédemment forment les composantes de l'incertitude de mesure totale. La démarche adoptée a ainsi permis d'évaluer toutes les sources d'incertitudes possibles dans le processus de mesure depuis le résultat à l'échelle du laboratoire jusqu'à l'échantillonnage à l'échelle d'un site de prélèvement.

Le TABLEAU 5.15 rassemble ces incertitudes exprimées en % pour 22 des 25 composés étudiés, ceux systématiquement caractérisés sous la limite de quantification n'ayant pas été considérés pour ces calculs.

Les incertitudes totales sont comprises entre 8% pour la codéine et le nordazépam et jusqu'à 58 et 84% pour la benzoylecgonine et le tétrazépam et sont de l'odre de 10-20% pour la quasi-totalité des composés quantifiés.

	U_{mesure} en %
HCBZ	17
ZLP-4A	27
BZL	58
CBZ	10
CIT	23
COD	8
DCIT	29
DZP	20
DCF	28
EDDP	12
GBP	14
MDMA	13
MMT	12
MTD	17
NCOD	15
NDZ	8
DVLF	18
OXA	34
PZP	25
TTZ	84
TMD	10
VLF	12

TABLEAU 5.15 – Incertitudes de mesure environnementale élargies (k=2) exprimées en %

La FIGURE 5.17, présente la partition du budget d'incertitude de mesure totale selon le poids des incertitudes laboratoire et échantillonnage.

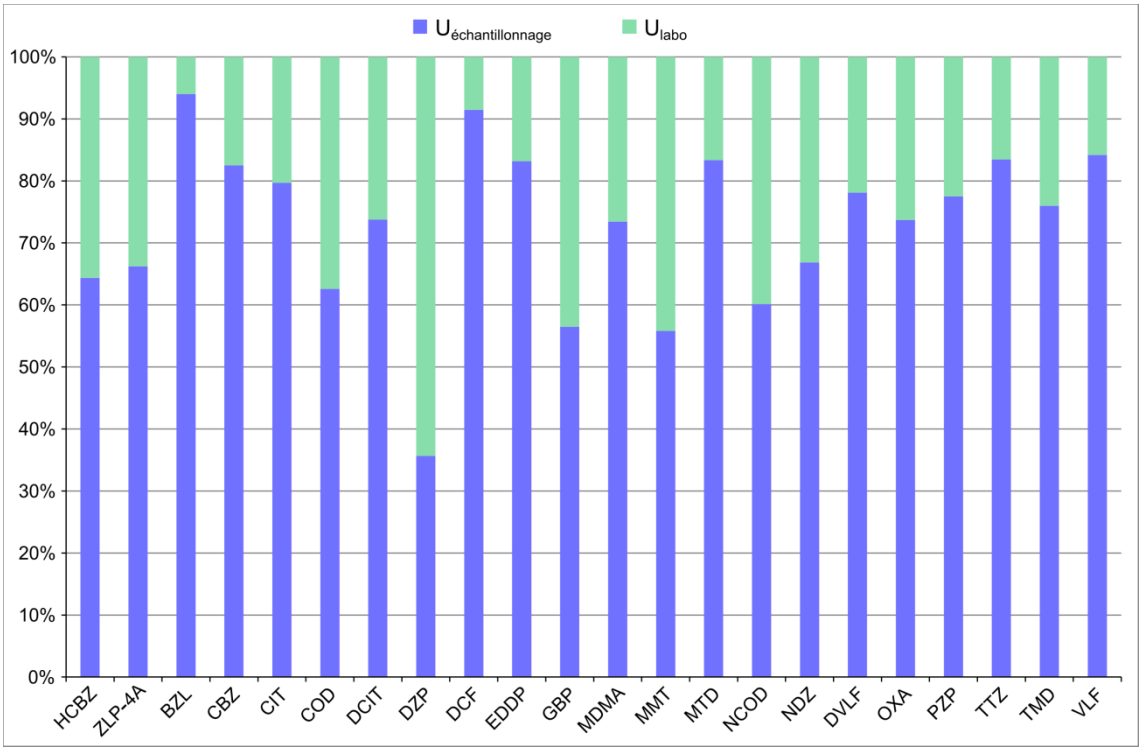


FIGURE 5.17 – Poids exprimé en % des incertitudes laboratoire et échantillonnage dans l'incertitude de mesure environnementale

Pour 21 des 22 composés quantifiés, la part de l'échantillonnage constitue la contribution la plus importante à l'incertitude de mesure totale. Elle représente par exemple 56% du budget global d'incertitudes pour la gabapentine et la mémantine ; et contribue jusqu'à 94% dans celui de la benzoylecgonine.

Le poids de l'incertitude laboratoire dans l'incertitude de mesure environnementale est quant à lui principalement lié à sa valeur intrinsèque. Celle-ci est généralement plus importante à des niveaux de concentration faible et en particulier à l'approche de la LQ. Aussi, cette contribution augmente mécaniquement lorsqu'une faible variabilité micro-spatiale sur le site d'échantillonnage est observée. Le diazépam en est l'illustration, en effet, en combinant ces deux critères, la part liée à l'incertitude laboratoire représente près de 64% de l'incertitude totale.

Les résultats de mesure avec leurs incertitudes de mesure environnementale totales ont ensuite été exprimés pour le site de Tolbiac (moyenne des 16 échantillons) ainsi que sur les deux autres sites de prélèvement comme le présente le TABLEAU 5.16.

La contamination des eaux de surface dans la Seine au niveau des 3 sites étudiés est comparable. Les valeurs mesurées indiquent une faible variation sur le continuum étudié ce qui confirme les observations issues de l'application préalable de la méthode multi-résidus. De plus en considérant l'incertitude totale élargie sur la mesure, l'ensemble des résultats n'est pas significativement différent. La variabilité spatiale entre les points étudiés le long de la Seine au niveau de la ville de Paris ne semble pas supérieure à la variabilité micro-spatiale observée au niveau du pont de Tolbiac.

	Tolbiac $C_{moy.} \pm U_{mesure}$ (ng.L^{-1}) (n=16)	Ile de la Cité $C \pm U_{mesure}$ (ng.L^{-1})	Garigliano $C \pm U_{mesure}$ (ng.L^{-1})
HCBZ	29,12 ± 5,05	32,49 ± 5,64	30,19 ± 5,24
ZLP-4A	7,18 ± 1,90	8,26 ± 2,19	6,77 ± 1,79
BZL	1,95 ± 1,13	1,58 ± 0,91	2,11 ± 1,22
CBZ	21,06 ± 2,09	22,56 ± 2,24	21,28 ± 2,11
CIT	3,22 ± 0,74	3,69 ± 0,85	3,31 ± 0,77
COC	0,11 ± 0,15	0,17 ± 0,23	0,23 ± 0,31
COD	8,95 ± 0,71	8,67 ± 0,69	7,89 ± 0,63
DCIT	2,40 ± 0,69	2,69 ± 0,77	2,46 ± 0,71
DZP	0,24 ± 0,05	0,23 ± 0,04	0,23 ± 0,04
DCF	24,64 ± 6,89	30,06 ± 8,41	26,87 ± 7,51
EDDP	1,71 ± 0,21	1,85 ± 0,22	1,71 ± 0,21
FLX	0,88 ± 0,55	0,86 ± 0,54	0,81 ± 0,50
GBP	171,44 ± 24,21	182,49 ± 25,77	168,44 ± 23,79
MDMA	0,40 ± 0,05	0,42 ± 0,06	0,45 ± 0,06
MMT	1,67 ± 0,20	1,79 ± 0,22	1,63 ± 0,20
MTD	0,54 ± 0,09	0,56 ± 0,10	0,55 ± 0,09
NCOD	1,40 ± 0,20	1,41 ± 0,21	1,47 ± 0,21
NDZ	0,90 ± 0,07	0,96 ± 0,07	0,90 ± 0,07
DVLF	27,72 ± 5,02	30,64 ± 5,54	27,29 ± 4,94
OXA	40,80 ± 13,78	46,27 ± 15,63	40,66 ± 13,74
PZP	0,43 ± 0,10	0,46 ± 0,11	0,43 ± 0,10
TTZ	0,82 ± 0,69	1,85 ± 1,56	2,06 ± 1,74
TMD	60,57 ± 5,97	64,98 ± 6,41	60,53 ± 5,97
VLF	15,85 ± 1,85	17,26 ± 2,02	16,17 ± 1,89
ZLP	0,14 ± 0,06	0,15 ± 0,06	0,16 ± 0,07

xx : <LQ (valeur cominiquée à titre indicatif)

TABLEAU 5.16 – Concentrations et incertitudes de mesure associées (k=2) sur 3 sites de prélèvement en Seine

6. Bilan du développement et de la mise en œuvre de la méthode de référence

La première méthode de référence pour la caractérisation de composés psychotropes émergents dans l'environnement a été développée. La caractérisation de ses performances a mis en évidence son adéquation avec les objectifs recherchés. En outre, les incertitudes laboratoires, évaluées selon la méthode GUM, sont plus faibles que celles de l'ensemble des méthodes existantes pour les analytes étudiés dans les eaux de surfaces. En cela, les travaux conduits apportent une réponse aux attentes métrologiques d'une méthode de référence à savoir le développement d'une méthode tendant vers les meilleures performances possibles dans l'état des ressources techniques disponibles pour l'établissement de données fiables, comparables et traçables.

Sa mise en œuvre a permis de caractériser la contamination du milieu par les composés recherchés et les incertitudes de mesure environnementale totale englobant le processus dans sa globalité depuis l'échantillonnage jusqu'au laboratoire. Le processus expérimental adopté a, en particulier, mis en évidence la variabilité micro-spatiale entre des échantillons prélevés au niveau d'un même site de prélèvement. Ainsi les résultats obtenus soulignent la nécessité d'une évaluation des incertitudes de mesures dans un contexte large afin de générer des données fiables et comparables.

La méthode de référence développée constitue un premier pas vers l'établissement de la traçabilité métrologique des mesures dans le domaine des analyses environnementales notamment dans la perspective d'utilisations futures pour la caractérisation de MRC et l'attribution de valeurs de référence à un EIL.

Conclusions et perspectives

Ces travaux de thèse avaient pour buts de répondre à des enjeux majeurs dans le domaine de l'analyse environnementale de composés émergents. L'étude s'est consacrée aux composés psychotropes ainsi qu'à certains autres résidus médicamenteux de principes actifs couramment consommés. Le premier objectif était d'améliorer la connaissance de leur occurrence dans les écosystèmes aquatiques métropolitains. Le second était de démontrer l'apport de la mise en œuvre d'approches et d'outils métrologiques sur la fiabilité de la donnée. En particulier, le but était d'améliorer la confiance dans l'évaluation de l'état de contamination des milieux par ces molécules

Ainsi, une liste de 69 composés d'intérêt a été définie sur la base d'une étude bibliographique incluant les aspects liés principalement à leur consommation, métabolisation, abattement durant les traitements d'épuration, occurrence dans les effluents et dans les eaux de surface, écotoxicité. Parmi cette liste figurent des composés parents et des métabolites dont 4 antiépileptiques, 19 anxiolytiques, 12 opiacés et opioïdes, 12 antidépresseurs, 4 anti-Alzheimer et 7 stimulants (substances illicites) ainsi que le paracétamol et 11 anti-inflammatoires non-stéroïdiens.

Une méthode multi-résidus par SPE-UPLC-MS^2 a été développée pour la caractérisation à l'état de traces de l'ensemble de ces analytes dans la phase dissoute d'eaux naturelles. La quantification a été assurée par l'introduction de 22 étalons internes marqués isotopiquement. Les rendements d'extraction absolus de la méthode optimisée étaient supérieurs à 70% pour la majorité des analytes et les rendements relatifs étaient compris en 72 et 123% pour près de 80% des molécules analysées. Les limites de quantification étaient inférieures à 1 $ng.L^{-1}$ pour 73% des composés étudiés et inférieures à 5 $ng.L^{-1}$ pour la quasi-totalité d'entre eux (94%). Les écart-types de répétabilité et de fidélité intermédiaire étaient, pour la grande majorité des analytes, inférieurs à 10 et à 20% respectivement. En outre, d'un point de vue méthodologique, le développement mené a souligné l'importance de la caractérisation de certaines étapes (évaporation, effet de la présence de chlore dans l'eau) afin d'assurer la fiabilité du processus de mesure. Dans ce contexte, l'utilisation d'étalons internes appropriés et dans l'idéal, l'implémentation de la dilution isotopique se sont avérées particulièrement efficaces pour la compensation de ces phénomènes tout au long de la procédure analytique.

Dans une démarche de développement d'outils complémentaires pour la surveillance de l'environnement, une approche par échantillonnage intégratif (POCIS) a également été mise en œuvre. En effet, l'intérêt de ces échantillonneurs est multiple. D'une part, ils permettent de concentrer *in-situ* les contaminants à analyser et ainsi d'augmenter la probabilité de les détecter et/ou de les quantifier. D'autre part, ils conduisent à une information intégrée dans le temps, ce qui augmente la représentativité de l'échantillon, surtout lorsque la contamination du milieu est variable. L'étalonnage conduit en laboratoire a permis de déterminer les constantes cinétiques pour 30 composés psychotropes (parents et métabolites dont 2 antiépileptiques, 3 anti-Alzheimer, 4 antidépresseurs, 11 anxiolytiques, 3 substances illicites et 7 opiacés et opioïdes). Les taux d'échantillonnage de 22 d'entre eux (dont 8 pour la première fois) ont été calculés pour une période d'exposition supérieure à 14 jours. Leurs valeurs étaient comprises entre 0,07 et 0,65 $L.j^{-1}$. L'applicabilité des POCIS a été évaluée par un déploiement au niveau de zones de captage d'eau potable en région parisienne. La présence de 40 composés a été reportée et l'aspect complémentaire de l'outil démontré par la mise en évidence de 5 molécules supplémentaires par rapport à l'échantillonnage ponctuel. Enfin les écarts observés entre les concentrations moyennées dans le temps estimées avec les POCIS et celles mesurées par approche conventionnelle étaient globalement de l'ordre de 30% ce qui est en accord avec ceux rapportés dans d'autres études.

En parallèle, la méthode multi-résidus a été appliquée à l'analyse d'effluents de stations d'épuration et d'eaux de surface. Plus particulièrement, les effluents provenaient de 6 stations d'épuration représentatives du territoire français en termes de dimensionnement et de traitement mis en œuvre. Plus de trois quarts des composés recherchés a été quantifié au moins une fois dans les échantillons analysés. Selon les analytes considérés, des concentrations variant de quelques $ng.L^{-1}$ à plusieurs centaines de $ng.L^{-1}$ ont été rapportées. Les données d'occurrence établies montrent de manière générale des résultats comparables à ceux observés dans d'autres pays même si certaines molécules comme le citalopram ou l'oxazépam, ont, dans un contexte national, été mesurées à des concentrations plus élevées. Il s'agit par ailleurs de la première caractérisation dans ce type de matrice de la classe des anti-Alzheimer dans son ensemble. Seule la mémantine avait été étudiée précédemment et les études sur cet analyte restent rares. D'autres composés peu étudiés ont également été caractérisés comme par exemple les deux métabolites du zolpidem. Après avoir caractérisé les sources de contamination, l'étude s'est poursuivie par l'analyse d'eaux de surface provenant de différents cours d'eau. Situé en région Bordelaise, le premier d'entre eux est constitué d'un petit cours d'eau recevant les rejets d'une station d'épuration. Les concentrations moyennes des 33 composés mesurés étaient supérieures à 10 $ng.L^{-1}$ pour environ la moitié d'entre eux dont 8 étaient supérieurs à 50 $ng.L^{-1}$. Les second et troisième sites d'étude sont situés en région parisienne au niveau de zones de captage d'eau potable provenant de la Seine et de la Marne. Un peu plus de la moitié des composés recherchés y a été caractérisée et 31 ont été quantifiés dans au moins 1 échantillon. Pour la moitié d'entre eux, les concentrations médianes étaient inférieures à 1 $ng.L^{-1}$ et comprises entre 1 et 10 $ng.L^{-1}$ pour la quasi-totalité des autres molécules. Seulement 5 composés ont été caractérisés à des concentrations supérieures : la 10,11-dihydro-10,11-dihydroxycarbamazépine, l'oxazépam, le tramadol, la gabapentine et le paracétamol. La comparaison avec d'autres points de captage d'eau potable en France et à l'étranger révèle des niveaux de contamination du même ordre de grandeur voire inférieurs. Enfin, l'étude d'un transect longitudinal de la Seine au niveau de la ville de Paris a permis de caractériser la présence (fréquence, niveau de concentration, variabilité) de la majorité des composés recherchés. Sur les 48 analytes détectés, 42

l'ont été au dessus de leur limite de quantification. Un peu plus d'un tiers d'entre eux (36%) a été mesuré à des concentrations médianes inférieures à 1 $ng.L^{-1}$, 40% entre 1 et 10 $ng.L^{-1}$ et le quart restant (24%) a été quantifié au dessus de 10 $ng.L^{-1}$. Malgré les différences pouvant être constatées selon la topologie des sites d'étude, une analogie a été observée dans l'occurrence individuelle des analytes au sein de leur classe chimique ou thérapeutique. En outre, de nouvelles données d'occurrence pour certains composés pas ou peu étudiés ont été générées. Plus particulièrement, l'ensemble des campagnes de mesure a conduit aux premières caractérisations dans les eaux de surface de la mémantine et des métabolites du zolpidem. De plus il s'agit des premières données d'occurrence de substances illicites (cocaïne, benzoylecgonine et MDMA) dans les eaux de surface métropolitaines.

Les données obtenues lors des différentes campagnes de mesures ont par la suite été utilisées afin d'établir une liste restreinte de composés psychotropes d'intérêt. Plus, particulièrement, la démarche de hiérarchisation mise en œuvre s'est appuyée sur l'association d'une méthode de scoring basée sur les données d'occurrence et de facteurs de pondération (besoins réglementaires, potentiel écotoxique, besoin d'amélioration de la qualité de la donnée, faisabilité technique).

24 composés psychotropes (antiépileptiques (3), antidépresseurs (6), anti-Alzheimer (1), anxiolytiques (7), opiacés et opioïdes (4) et substances illicites (3)) ainsi que le diclofénac ont fait l'objet du développement d'une méthode de référence reposant sur le principe de la DI-SPE-UPLC-MS^2 19 composés présentaient des LQ inférieures à 0,5 $ng.L^{-1}$, 1 composé entre 0,5 et 1 $ng.L^{-1}$, 5 composés entre 1 et 3,5 $ng.L^{-1}$. En l'absence de MRC, les erreurs de justesse ont été évaluées grâce à des étalons de pureté minimum de 98%. Dans des conditions de fidélité intermédiaire les erreurs de justesse étaient comprises entre -4% et 1% avec des écarts-types de fidélité intermédiaire compris entre 1% et 9%. En considérant l'ensemble de ces résultats en termes de justesse et de fidélité avec une tolérance de 10%, l'exactitude de la méthode a été démontrée pour l'ensemble des analytes considérés. En outre, les incertitudes laboratoires ont été évaluées selon la méthode GUM. Cette méthode se base sur la description mathématique du processus de mesure afin d'identifier chaque source d'incertitude puis de les propager au modèle. Dans les échantillons d'eau de Seine analysés, les incertitudes élargies (k=2) laboratoires estimées étaient inférieures à 10% pour la majorité des composés. La caractérisation des performances de la méthode développée a donc mis en évidence son adéquation avec les objectifs recherchés. En cela, les travaux conduits apportent une réponse aux attentes métrologiques d'une méthode de référence à savoir : le développement d'une méthode tendant vers les meilleures performances possibles dans l'état des ressources techniques disponibles pour l'établissement de données exactes et traçables. De plus, une étude spécifique conduite au niveau du pont de Tolbiac à Paris a mis en évidence la variabilité micro-spatiale entre les échantillons prélevés sur un même site. En conséquence, l'incertitude de mesure incluant la part liée à l'échantillonnage a été évaluée. Ces résultats soulignent donc la pertinence d'une évaluation des incertitudes de mesures dans un contexte large afin de générer des données fiables et comparables.

Les perspectives des travaux menés dans le cadre de la thèse sont exposées dans les paragraphes suivants.

Certains des composés étudiés, bien qu'étant détectés n'ont pas pu être quantifiés. Pour les caractériser, des méthodes spécifiques pourraient constituer une solution afin de maximiser les performances en terme de sensibilité. Cela serait

notamment intéressant pour la fluoxétine et ces métabolites. En effet, la fluoxétine est la principale molécule de la classe des ISRS à avoir été détectée au cours des différentes campagnes de mesures.

Il serait également intéressant de poursuivre les développements sur l'échantillonnage intégratif. Plus particulièrement, l'introduction de PRC (Performance Reference Compound) pourrait contribuer à améliorer la portée quantitative de l'outil en compensant les perturbations liées aux conditions d'expositions et pouvant impacter les résultats de mesure. Des besoins en terme méthodologique et métrologiques ont également été identifiés quant à la nécessité d'harmonisation des pratiques et l'estimation des incertitudes notamment. Plus particulièrement, les conditions expérimentales dans lesquelles les taux d'échantillonnages sont déterminés ainsi que la méthode de calcul sont vecteurs d'incertitudes non négligeables sur l'expression du résultat final.

D'un point de vue méthodologique, l'ensemble des mesures effectuées pendant ces travaux de thèse était relatif à la fraction dissoute. Dans une optique de compréhension du devenir environnemental et d'amélioration de la connaissance dans les milieux aquatiques, il serait donc intéressant de caractériser la part de la fraction particulaire dans la contamination totale. En outre, ce besoin est également supporté par certaines exigences réglementaires liées à la surveillance DCE.

Aussi, de manière à compléter les connaissances quant à l'occurrence des molécules étudiées dans les systèmes aquatiques, la poursuite des campagnes de mesure sur d'autres sites d'étude serait intéressante. De plus, les résultats issus des campagnes conduites au niveau des zones de captage d'eau potable soulignent le besoin de caractériser le devenir des résidus médicamenteux au cours des traitements de potabilisation et leur éventuelle présence dans les eaux destinées à la consommation humaine. Des travaux complémentaires ont été initiés en ce sens en collaboration avec Eau de Paris, l'entreprise publique en charge de la production et de la distribution de l'eau dans Paris.

Des perspectives d'amélioration de la caractérisation et de la validation de la méthode référence développée peuvent également être mises en avant. La norme T90-230 *« Qualité de l'eau - Caractérisation des méthodes d'analyses - Guide pour la sélection d'une matrice représentative d'un domaine d'application »,* une fois validée, *devra permettre* d'améliorer à la fois l'évaluation des performances de la méthode analytiques (LQ notamment). Il n'existe pas à l'heure actuelle de MRC permettant d'évaluer la justesse et donc l'exactitude de la méthode. Dans le cadre du programme de travail du CCQM-OAWG, un essai d'inter-comparaisons sur certaines des molécules de la méthode de référence devrait être organisé en 2015. Il permettra au LNE d'une part de démontrer l'exactitude de la méthode développée et d'autre part de démontrer son équivalence par rapport aux autres instituts nationaux de métrologie.

Dans un premier temps, l'utilisation de la méthode de référence pourrait être envisagée dans l'attribution de valeurs cibles à un EIL. Et, dans un deuxième temps, cette méthode de référence pourrait être employée pour la caractérisation de futurs MRC dont l'absence constitue, à l'heure actuelle, une limitation dans l'évaluation de l'exactitude des méthodes.

Bibliographie

AFSSAPS (2006). Analyse des ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux, 1994 – 2004, 6ème édition (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé).

AFSSAPS (2010). (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé), Analyse des ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux, 1998-2008. *Available from: http://ansm.sante.fr/Mediatheque/Publications/Rapports-Syntheses-Medicaments*.

AFSSAPS (2011). (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé), Analyse des ventes de médicaments aux officines et aux hôpitaux, 1999-2009. *Available from: http://ansm.sante.fr/Mediatheque/Publications/Rapports-Syntheses-Medicaments*.

Allgulander, C., and Nutt, D. (2010). Benzodiazepines. In Encyclopedia of Psychopharmacology, I.P. Stolerman, ed. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 218–223.

Alvarez, D.A. (2007). POCIS – Current Applications, On-going Research and Future Needs.

Alvarez, D.A., Petty, J.D., Huckins, J.N., Jones-Lepp, T.L., Getting, D.T., Goddard, J.P., and 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.

Alvarez, D.A., Huckins, J.N., Petty, J.D., Jones-Lepp, T., Stuer-Lauridsen, F., Getting, D.T., Goddard, J.P., and Gravell, A. (2007). Chapter 8 Tool for monitoring hydrophilic contaminants in water: polar organic chemical integrative sampler (POCIS). In Comprehensive Analytical Chemistry, G.M. and B.V. R. Greenwood, ed. (Elsevier), pp. 171–197.

Amalric, L., Cabillic, J., Lardy-Fontan, S., and Strub, M.-P. (2011). Compatibilité des méthodes d'analyse des substances organiques avec les exigences des programmes de surveillance de la DCE (BRGM).

Amalric, L., Bados, P., Charpentier, R., Lardy-Fontan, S., and Strub, M.-P. (2012). Résultats de l'éssai inter-laboratoires "résidus de médicaments dans l'eau" (Aquaref, BRGM).

AMPERES (2010). Analyse de micropolluants prioritaires et émergents dans les rejets et les eaux superficielles 2006-2009. Synthèse Du Projet ANR.

Andreozzi, R., Raffaele, M., and Nicklas, P. (2003). Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. Chemosphere *50*, 1319–1330.

ANSES - Laboratoire+ d'Hydrologie de Nancy (2011). Campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine - Ressources en eaux brutes et eaux traitées.

ANSM (2011). Point d'information du 18 octobre 2011 : Rivotril® (clonazépam) : Modification des conditions de prescription et de délivrance.

ANSM (2012). Point d'information : Retrait du marché le 10 janvier 2012 des spécialités contenant du méprobamate seul (voie orale) et de MEPRONIZINE, dont le rapport bénéfice/risque réévalué par l'Afssaps, est désormais considéré défavorable.

ANSM (2013a). Etat des lieux de la consommation de benzodiazépines en France.

ANSM (2013b). Point d'Information du 2 juillet 2013 : Suspension des autorisations de mise sur le marché du tétrazépam.

ANSM (2013c). Analyse des ventes de médicaments en France en 2012.

ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), Glossaire.

Al Aukidy, M., Verlicchi, P., Jelic, A., Petrovic, M., and Barcelò, D. (2012). Monitoring release of pharmaceutical compounds: Occurrence and environmental risk assessment of two WWTP effluents and their receiving bodies in the Po Valley, Italy. Sci. Total Environ. *438*, 15–25.

Backhaus, T., Sumpter, J., and Blanck, H. (2008). Pharmaceuticals in the Environment. In Klaus Kümmerer (Eds.), Pharmaceuticals in the Environment, (Springer Berlin Heidelberg), pp. 257–276.

Bagnall, J.P., Evans, S.E., Wort, M.T., Lubben, A.T., and Kasprzyk-Hordern, B. (2012). Using chiral liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface and wastewater at the enantiomeric level. J. Chromatogr. A *1249*, 115–129.

Bailly, A. (1901). Abrégé du dictionnaire Grec-Français.

Bailly, E., Levi, Y., and Karolak, S. (2013). Calibration and field evaluation of polar organic chemical integrative sampler (POCIS) for monitoring pharmaceuticals in hospital wastewater. Environ. Pollut. *174*, 100–105.

Baker, D.R., and Kasprzyk-Hordern, B. (2011a). Multi-residue analysis of drugs of abuse in wastewater and surface water by solid-phase extraction and liquid chromatography–positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A *1218*, 1620–1631.

Baker, D.R., and 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., and 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.

Barclay, V.K.H., Tyrefors, N.L., Johansson, I.M., and 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.

Bartelt-Hunt, S.L., Snow, D.D., Damon, T., Shockley, J., and Hoagland, K. (2009). The occurrence of illicit and therapeutic pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters in Nebraska. Environ. Pollut. *157*, 786–791.

Baselt, R.C. (2009). Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man (Foster City, CA: Biomedical Publications).

Batt, A.L., Kostich, M.S., and Lazorchak, J.M. (2008). Analysis of Ecologically Relevant Pharmaceuticals in Wastewater and Surface Water Using Selective Solid-Phase Extraction and UPLC−MS/MS. Anal. Chem. *80*, 5021–5030.

Beck, F., Legleye, S., Spilka, S., Briffault, X., Gautier, A., Lamboy, B., Léon, C., and Wilquin, J.-L. (2006). Les niveaux d'usage des drogues en France en 2005 (Tendances n°48: Observatoire Français des Drogues et des Toxicomanies).

Beck, F., Guignard, R., J.-B., R., Tovar, M.-L., and Spilka, S. (2011). Les niveaux d'usage des drogues en France en 2010 (Tendances n°76: Observatoire Français des Drogues et des Toxicomanies).

Belles, A. (2012). Développement et applications environnementales des échantillonneurs passifs pour la surveillance des écosystèmes aquatiques. Université Bordeaux 1, école doctorale des sciences chimiques.

Belles, A., Pardon, P., and Budzinski, H. (2014). Development of an adapted version of polar organic chemical integrative samplers (POCIS-Nylon). Anal. Bioanal. Chem. *406*, 1099–1110.

Bendz, D., Paxéus, N.A., Ginn, T.R., and Loge, F.J. (2005). Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden. J. Hazard. Mater. *122*, 195–204.

Benotti, M.J., Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Stanford, B.D., and Snyder, S.A. (2009). Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water. Environ. Sci. Technol. *43*, 597–603.

Berger, J.M., and Zaghi, S. (2011). Nonopioid Analgesics in Pain Management. In Essentials of Pain Management, N. Vadivelu, R.D. Urman, and R.L. Hines, eds. (New York, NY: Springer New York), pp. 117–150.

Berr, C. (2010). Présentation orale : Epidémiologie de la maladie d'Alzheimer. Journée Recherche et Santé Alzheimer, Paris, 23 juin 2010.

Berset, J.-D., Brenneisen, R., and Mathieu, C. (2010). Analysis of llicit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography – Electrospray tandem mass spectrometry (HPLC–MS/MS). Chemosphere *81*, 859–866.

Besse, J.-P., and Garric, J. (2007). Proposition d'une liste de médicaments à usage humain à surveiller dans les eaux de surface continentales (Lyon: Agence de l'Eau R.M.C.).

Besse, J.-P., and Garric, J. (2008). Human pharmaceuticals in surface waters: Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. Toxicol. Lett. *176*, 104–123.

BIAM Banque de Données Automatisée sur les Médicaments.

Bijlsma, L., Sancho, J.V., Pitarch, E., Ibáñez, M., and Hernández, F. (2009). Simultaneous ultra-high-pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry determination of amphetamine and amphetamine-like stimulants, cocaine and its metabolites, and a cannabis metabolite in surface water and urban wastewater. J. Chromatogr. A *1216*, 3078–3089.

Bijlsma, L., Emke, E., Hernández, F., and de Voogt, P. (2012). Investigation of drugs of abuse and relevant metabolites in Dutch sewage water by liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. Chemosphere *89*, 1399–1406.

BIPM (1999). Comité consultatif pour la quantité de matière (CCQM) - 5e session (février 1999).

Bisceglia, K., Roberts, A., Schantz, M., and Lippa, K. (2010). Quantification of drugs of abuse in municipal wastewater via SPE and direct injection liquid chromatography mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. *398*, 2701–2712.

Bodnar, R.J. (2010). Endogenous opiates and behavior: 2009. Peptides *31*, 2325–2359.

Boeglin, J.-C. (1999). Lutte contre la pollution de l'eau – Inventaire des traitements. Techniques de l'Ingénieur, Traité Environnement *G1250*.

Boeglin, J.-C. (2002). Traitements physico-chimiques de la pollution insoluble. Techniques de l'Ingénieur, Traité Environnement *G1270*.

Boethling, R.S., Sommer, E., and DiFiore, D. (2007). Designing small molecules for biodegradability. Chem. Rev. *107*, 2207–2227.

Boleda, M.R., Galceran, M.T., and Ventura, F. (2007). Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A *1175*, 38–48.

Boleda, M.R., Galceran, M.T., and Ventura, F. (2009). Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. Water Res. *43*, 1126–1136.

Boleda, M.R., Galceran, M.T., and Ventura, F. (2013). Validation and uncertainty estimation of a multiresidue method for pharmaceuticals in surface and treated waters by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A *1286*, 146–158.

Borgmann, U., Bennie, D.T., Ball, A.L., and Palabrica, V. (2007). Effect of a mixture of seven pharmaceuticals on Hyalella azteca over multiple generations. Chemosphere *66*, 1278–1283.

Boxall, A.B.A., Sinclair, C.J., Fenner, K., Kolpin, D., and Maund, S.J. (2004). Peer Reviewed: When Synthetic Chemicals Degrade in the Environment. Environ. Sci. Technol. *38*, 368A–375A.

Bristeau, S. (2011). Surveillance des résidus de médicaments : stabilité dans les échantillons d'eau et distribution entre fractions dissoute et particulaire - Rapport AQUAREF (BRGM).

Brooks, B.W., Foran, C.M., Richards, S.M., Weston, J., Turner, P.K., Stanley, J.K., Solomon, K.R., Slattery, M., and La Point, T.W. (2003a). Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. Toxicol. Lett. *142*, 169–183.

Brooks, B.W., Foran, C.M., Richards, S.M., Weston, J., Turner, P.K., Stanley, J.K., Solomon, K.R., Slattery, M., and La Point, T.W. (2003b). Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. Toxicology Letters *142*, 169–183.

Brooks, B.W., Turner, P.K., Stanley, J.K., Weston, J.J., Glidewell, E.A., Foran, C.M., Slattery, M., La Point, T.W., and Huggett, D.B. (2003c). Waterborne and sediment toxicity of fluoxetine to select organisms. Chemosphere *52*, 135–142.

Brooks, B.W., Chambliss, C.K., Stanley, J.K., Ramirez, A., Banks, K.E., Johnson, R.D., and Lewis, R.J. (2005). Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. Environ. Toxicol. Chem. *24*, 464–469.

Brooks, B.W., Huggett, D.B., and Boxall, A.B.A. (2009). Pharmaceuticals and personal care products: Research needs for the next decade. Environ. Toxicol. Chem. *28*, 2469–2472.

Budzinski, H., Forget-Leray, J., and Aït-Aïssa S. (2012). Etude de la contamination par les médicaments de l'estuaire de la Seine. Application des capteurs passifs à un meilleur diagnostic de leur présence, flux et impacte toxique - Rapport Seine Aval 4.

Bueno, M.J.M., Gomez, M.J., Herrera, S., Hernando, M.D., Agüera, A., and Fernández-Alba, A.R. (2012). Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: Two years pilot survey monitoring. Environ. Pollut. *164*, 267–273.

Burstein, S.H. (1999). The Cannabinoid Acids: Nonpsychoactive Derivatives with Therapeutic Potential. Pharmacol. Ther. *82*, 87–96.

Buser, H.-R., Poiger, T., and Müller, M.D. (1998). Occurrence and Fate of the Pharmaceutical Drug Diclofenac in Surface Waters: Rapid Photodegradation in a Lake. Environ. Sci. Technol. *32*, 3449–3456.

Calamari, D., Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., and Fanelli, R. (2003). Strategic Survey of Therapeutic Drugs in the Rivers Po and Lambro in Northern Italy. Environ. Sci. Technol. *37*, 1241–1248.

Calisto, V., and Esteves, V.I. (2009). Psychiatric pharmaceuticals in the environment. Chemosphere *77*, 1257–1274.

Calisto, V., Domingues, M.R.M., and Esteves, V.I. (2011). Photodegradation of psychiatric pharmaceuticals in aquatic environments – Kinetics and photodegradation products. Water Res. *45*, 6097–6106.

Capaldo, A., Gay, F., Maddaloni, M., Valiante, S., De Falco, M., Lenzi, M., and Laforgia, V. (2012). Presence of Cocaine in the Tissues of the European Eel, “Anguilla anguilla”, Exposed to Environmental Cocaine Concentrations. Water, Air, Soil Pollut. 1–7.

Capdeville, M.J., and Budzinski, H. (2011). Trace-level analysis of organic contaminants in drinking waters and groundwaters. TrAC, Trends Anal. Chem. *30*, 586–606.

Castiglioni, S., Bagnati, R., Calamari, D., Fanelli, R., and Zuccato, E. (2005). A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. J. Chromatogr. A *1092*, 206–215.

Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., Pomati, F., Calamari, D., and Zuccato, E. (2006a). Removal of Pharmaceuticals in Sewage Treatment Plants in Italy. Environ. Sci. Technol. *40*, 357–363.

Castiglioni, S., Zuccato, E., Crisci, E., Chiabrando, C., Fanelli, R., and Bagnati, R. (2006b). Identification and Measurement of Illicit Drugs and Their Metabolites in Urban Wastewater by Liquid Chromatography−Tandem Mass Spectrometry. Anal. Chem. *78*, 8421–8429.

Castiglioni, S., Zuccato, E., Chiabrando, C., Fanelli, R., and Bagnati, R. (2008). Mass spectrometric analysis of illicit drugs in wastewater and surface water. Mass Spectrom. Rev. *27*, 378–394.

Charlestra, L., Amirbahman, A., Courtemanch, D.L., Alvarez, D.A., and Patterson, H. (2012). Estimating pesticide sampling rates by the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) in the presence of natural organic matter and varying hydrodynamic conditions. Environ. Pollut. *169*, 98–104.

Chiaia, A.C., Banta-Green, C., and Field, J. (2008). Eliminating solid phase extraction with large-volume injection LC/MS/MS: analysis of illicit and legal drugs and human urine indicators in U.S. wastewaters. Environ. Sci. Technol. *42*, 8841–8848.

Chiron, S., Minero, C., and Vione, D. (2006). Photodegradation Processes of the Antiepileptic Drug Carbamazepine, Relevant To Estuarine Waters. Environ. Sci. Technol. *40*, 5977–5983.

Christensen, A.M., Faaborg-Andersen, S., Ingerslev, F., and Baun, A. (2007). Mixture and single-substance toxicity of selective serotonin reuptake inhibitors toward algae and crustaceans. Environ. Toxicol. Chem. *26*, 85–91.

Chu, S., and Metcalfe, C.D. (2007). Analysis of paroxetine, fluoxetine and norfluoxetine in fish tissues using pressurized liquid extraction, mixed mode solid phase extraction cleanup and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A *1163*, 112–118.

Clauwaert, K.M., Bocxlaer, J.F.V., Letter, E.A.D., Calenbergh, S.V., Lambert, W.E., and Leenheer, A.P.D. (2000). Determination of the Designer Drugs 3,4-Methylenedioxymethamphetamine, 3,4-Methylenedioxyethylamphetamine, and 3,4-Methylenedioxyamphetamine with HPLC and Fluorescence Detection in Whole Blood, Serum, Vitreous Humor, and Urine. Clin. Chem. *46*, 1968–1977.

Cleuvers, M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. Toxicol. Lett. *142*, 185–194.

Cleuvers, M. (2004). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. Ecotoxicol. Environ. Saf. *59*, 309–315.

Cody, J.T. (2005). Amphetamines. In Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition), W. Editors-in-Chief: Paul, T. Alan, and P. Colin, eds. (Oxford: Elsevier), pp. 80–88.

Cofrac (2011). Expression et évaluation des portées d'accrédiation.

Commission Européenne (2009). Directive 2009/90/CE de la Commission du 31 juillet 2009 établissant, conformément à la directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil, des spécifications techniques pour l'analyse chimique et la surveillance de l'état des eaux (Journal officiel des Communautés européennes. L. Législation 201 du 1.8.2009).

CPAM (2010). MEDIC'AM 2004-2009 (base de données de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie - disponible sur : http://www.ameli.fr/l-assurance-maladie/statistiques-et-publications/index.php).

CPAM (2013). MEDIC'AM 2008-2012 (base de données de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie - disponible sur : http://www.ameli.fr/l-assurance-maladie/statistiques-et-publications/index.php).

Crane, M., Watts, C., and Boucard, T. (2006). Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals. Sci. Total Environ. *367*, 23–41.

Cunningham, V.L. (2008). Pharmaceuticals in the Environment. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 23–34.

D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A., Mancini, R., Mastropasqua, R., Nazzari, M., and Samperi., R. (2003). Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. Sci. Total Environ. *302*, 199–209.

Daughton, C.G. (2001). Emerging pollutants, and communicating the science of environmental chemistry and mass spectrometry: pharmaceuticals in the environment. J. Am. Soc. Mass Spectrom. *12*, 1067–1076.

Daughton, C., and Brooks, B. (2011). Active Pharmaceutical Ingredients and Aquatic Organisms, " In: Environmental Contaminants in Biota: Interpreting Tissue Concentrations, W. Nelson Beyer and James P. Meador (Eds.), 2nd ed., CRC Press, Taylor and Francis, Boca Raton, FL; Chapter 8, p 286-347, 2011.

Daughton, C.G., and Ternes, T.A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? Environ. Health Perspect. *107*.

Delporte, C. (2007). Traitement biologiques aérobies des effluents industriels. Techniques de l'Ingénieur *G1300*.

Demeestere, K., Petrović, M., Gros, M., Dewulf, J., Langenhove, H., and Barceló, D. (2009). Trace analysis of antidepressants in environmental waters by molecularly imprinted polymer-based solid-phase extraction followed by ultra-performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. *396*, 825–837.

Deutsch, J.-C. (2003). Annexe 81 - Les Réseaux Unitaires (Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques: Rapport sur la qualité de l'eau et de l'assainissement en France).

El Mrabet (2008). Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant chaud pressurisé. Pierre et Maris Curie.

EMCDDA (2010). (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addictions), 2010 Annual report on the state of the drugs problem in Europe (ISBN/ISSN: 978-92-9168-432-8).

EMEA (2006). Guidelines on the environmental risk assessment of medicinal products for human use. (European Medicines Agency).

EPA (1998). Guidelines for Ecological Risk Assessment (US Environmental Protection Agency).

EPA (2010). Stability of Pharmaceuticals, Personal Care Products, Steroids, and Hormones in Aqueous Samples, POTW Effluents, and Biosolids (United States Environmental Protection Agency).

Epilepsie-France (2007). http://www.epilepsie-france.com/index.php/comprendre/epidemiologie/.

Escher, B.I., Baumgartner, R., Koller, M., Treyer, K., Lienert, J., and McArdell, C.S. (2011). Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. Water Res. *45*, 75–92.

ESSP (2007). Global Environmental Changeand Human Health No.1 - Science Plan and Implementation Strategy Earth System Science Partnership (DIVERSITAS,IGBP, IHDP, andWCRP) Report No.4 ;

EURACHEM/CITAC (2007). Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, First Edition (S L R Ellison (LGC, UK) M Rosslein (EMPA, Switzerland) A Williams (UK)).

European Commission (2002). Official Journal of the European Communities, Commission decision (2002/657/EC): implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. Available from: http://eurlex. europa.eu/en/index.htm.

Fatta-Kassinos, D., Meric, S., and 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. (2008). Pharmaceuticals in the Environment. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 175–203.

Fent, K., Weston, A.A., and Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. Aquat. Toxicol. *76*, 122–159.

Ferrari, B., Paxéus, N., Giudice, R.L., Pollio, A., and Garric, J. (2003). Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: Study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac. Ecotoxicol. Environ. Saf. *55*, 359–370.

Fisicaro, P., Lalère, B., Cabillic, J., Lardy-Fontan, S., Gantois, F., Champion, R., and Labarraque, G. (2012). Comparabilité et qualité des données : proposition d'une stratégie pour assurer la traçabilité des mesures et répondre aux exigences de la DCE par matériaux de références cerfiés (MRC) et essais interlaboratoires (EIL) (Aquaref, LNE).

Flaherty, C.M., and Dodson, S.I. (2005). Effects of pharmaceuticals on Daphnia survival, growth, and reproduction. Chemosphere *61*, 200–207.

Flippin, J.L., Huggett, D., and Foran, C.M. (2007). Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, Oryzias latipes. Aquat. Toxicol. *81*, 73–78.

Foran, C.M., Weston, J., Slattery, M., Brooks, B.W., and Huggett, D.B. (2004). Reproductive Assessment of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) Following a Four-Week Fluoxetine (SSRI) Exposure. Arch. Environ. Contam. Toxicol. *46*, 511–517.

Freye, E., and Levy, J.. (2007). Use of Potent Opioids for Chronic Pain Management. In Opioids in Medicine, (Springer Berlin Heidelberg),.

Gagné, F., Blaise, C., Fournier, M., and Hansen, P.D. (2006). Effects of selected pharmaceutical products on phagocytic activity in Elliptio complanata mussels. Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. *143*, 179–186.

Gandilhon, M., Cadet-Taïrou, A., Lahaie, E., and Chalumeau, M. (2010). Drogues illicites : les observations du dispositif TREND en 2009 (Tendances n°73: Observatoire Français des Drogues et des Toxicomanies).

Gasquet, I., Nègre-Pagès, L., Fourrier, A., Nachbaur, G., El-Hasnaoui, A., Kovess, V., and Lépine, J.P. (2005). Psychotropic drug use and mental psychiatric disorders in France; results of the general population ESEMeD/MHEDEA 2000 epidemiological study. Usage Des Psychotropes et Troubles Psychiatriques En France: Résultats de L'étude Épidémiologique ESEMeD/MHEDEA 2000/(ESEMeD) En Population Générale *31*, 195–206.

Gawlik, B.M., Loos, R., Bidoglio, G., Fauler, G., Guo, X., Lankmayr, E., and Linsinger, T. (2012). Testing sample stability in short-term isochronous stability studies for EU-wide monitoring surveys of polar organic contaminants in water. TrAC, Trends Anal. Chem. *36*, 36–46.

Gentilini, M. (2008). Propositions pour un deuxième plan national santé-environnement (PNSE2) 2009 - 2013 (Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable, des Transports et du Logement).

Gheorghe, A., van Nuijs, A., Pecceu, B., Bervoets, L., Jorens, P., Blust, R., Neels, H., and Covaci, A. (2008). Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography–ion trap tandem mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. *391*, 1309–1319.

Gilart, N., Cormack, P.A.G., Marcé, R.M., Borrull, F., and Fontanals, N. (2013). Preparation of a polar monolithic coating for stir bar sorptive extraction of emerging contaminants from wastewaters. J. Chromatogr. A *1295*, 42–47.

Gilart, N., Marcé, R.M., Borrull, F., and Fontanals, N. (2014). New coatings for stir-bar sorptive extraction of polar emerging organic contaminants. TrAC, Trends Anal. Chem. *54*, 11–23.

Gomes, D., de Pinho, P.G., Pontes, H., Ferreira, L., Branco, P., Remião, F., Carvalho, F., Bastos, M.L., and Carmo, H. (2010). Gas chromatography–ion trap mass spectrometry method for the simultaneous measurement of MDMA (ecstasy) and its metabolites, MDA, HMA, and HMMA in plasma and urine. J. Chromatogr. B *878*, 815–822.

Gómez, M.J., Petrović, M., Fernández-Alba, A.R., and 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, S., López-Roldán, R., and Cortina, J.-L. (2012). Presence and biological effects of emerging contaminants in Llobregat River basin: A review. Environ. Pollut. *161*, 83–92.

González Alonso, S., Catalá, M., Maroto, R.R., Gil, J.L.R., de Miguel, Á.G., and Valcárcel, Y. (2010). Pollution by psychoactive pharmaceuticals in the Rivers of Madrid metropolitan area (Spain). Environ. Int. *36*, 195–201.

González-Mariño, I., Quintana, J.B., Rodríguez, I., Rodil, R., González-Peñas, J., and Cela, R. (2009). Comparison of molecularly imprinted, mixed-mode and hydrophilic balance sorbents performance in the solid-phase extraction of amphetamine drugs from wastewater samples for liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination. J. Chromatogr. A *1216*, 8435–8441.

Grabic, R., Fick, J., Lindberg, R.H., Fedorova, G., and Tysklind, M. (2012). Multi-residue method for trace level determination of pharmaceuticals in environmental samples using liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. Talanta *100*, 183–195.

Gracia-Lor, E., Sancho, J.V., Serrano, R., and Hernández, F. (2012). Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia. Chemosphere *87*, 453–462.

Gros, M., Petrović, M., and 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.

Gros, M., Petrović, M., and Barceló, D. (2009). Tracing pharmaceutical residues of different therapeutic classes in environmental waters by using liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and automated library searching. Anal. Chem. *81*, 898–912.

Gros, M., Petrović, M., Ginebreda, A., and Barceló, D. (2010). Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. Environ. Int. *36*, 15–26.

Gros, M., Rodríguez-Mozaz, S., and Barceló, D. (2012). Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A *1248*, 104–121.

GUM - JCGM (2008). Évaluation des données de mesure — Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure.

Halling-Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H.C., and Jørgensen, S.E. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. Chemosphere *36*, 357–393.

Hao, C., Zhao, X., Tabe, S., and Yang, P. (2008). Optimization of a multiresidual method for the determination of waterborne emerging organic pollutants using solid-phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry and isotope dilution mass spectrometry. Environ. Sci. Technol. *42*, 4068–4075.

Harada, A., Koya Komori, Norihide Nakada, Kiyoaki Kitamura, and Suzuki, Y. (2008). Biological effects of PPCPs on aquatic lives and evaluation of river waters affected by different wastewater treatment levels. Water Sci. Technol. *58*, 1541–1546.

Harman, C., Bøyum, O., Thomas, K.V., and Grung, M. (2009). Small but different effect of fouling on the uptake rates of semipermeable membrane devices and polar organic chemical integrative samplers. Environ. Toxicol. Chem. *28*, 2324–2332.

Harman, C., Reid, M., and Thomas, K.V. (2011a). In situ calibration of a passive sampling device for selected illicit drugs and their metabolites in wastewater, and subsequent year-long assessment of community drug usage. Environ. Sci. Technol. *45*, 5676–5682.

Harman, C., Allan, I.J., and Bäuerlein, P.S. (2011b). The Challenge of Exposure Correction for Polar Passive Samplers—The PRC and the POCIS. Environ. Sci. Technol. *45*, 9120–9121.

Harman, C., Allan, I., and Thomas, K.V. (2012a). 1.14 - Passive Sampling of Organic Contaminants in Waters. In Comprehensive Sampling and Sample Preparation, J. Pawliszyn, ed. (Oxford: Academic Press), pp. 265–280.

Harman, C., Allan, I.J., and Vermeirssen, E.L.M. (2012b). Calibration and use of the polar organic chemical integrative sampler--a critical review. Environ. Toxicol. Chem. *31*, 2724–2738.

HAS (2010). (Haute Autorité de la Santé), Prise en charge des consommateurs de cocaïne, Argumentaire.

HAS (2011a). (Haute Autorité de la Santé), Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées : diagnostic et prise en charge.

HAS (2011b). (Haute Autorité de la Santé), Réévaluation des médicaments indiqués dans le traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer.

HCSP (2013). Évaluation du deuxième Plan National Santé-Environnement : synthèse et préconisations (Haut Conseil de la Santé Publique).

Healy, D. (2008). The Intersection of Psychopharmacology and Psychiatry in the Second Half of the Twentieth Century. In History of Psychiatry and Medical Psychology, E.R.W.I.M. MACPsych MD, and J. Gach, eds. (Springer US), pp. 419–437.

Heberer, T. (2002). Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. Toxicol. Lett. *131*, 5–17.

Heberer, T., and Feldmann, D. (2005). Contribution of effluents from hospitals and private households to the total loads of diclofenac and carbamazepine in municipal sewage effluents—modeling versus measurements. J. Hazard. Mater. *122*, 211–218.

Heinrich-Ramm, R., Wegner, R., Garde, A.H., and Baur, X. (2002). Cotinine excretion (tobacco smoke biomarker) of smokers and non-smokers: comparison of GC/MS and RIA results. Int. J. Hyg. Environ. Health *205*, 493–499.

Henry, T.B., and Black, M.C. (2007). Mixture and single-substance acute toxicity of selective serotonin reuptake inhibitors in Ceriodaphnia dubia. Environ. Toxicol. Chem. *26*, 1751–1755.

Henry, T.B., Kwon, J.-W., Armbrust, K.L., and Black, M.C. (2004). Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in Ceriodaphnia dubia. Environ. Toxicol. Chem. *23*, 2229–2233.

Hernández, F., Sancho, J.V., Ibáñez, M., and Guerrero, C. (2007). Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS. TrAC, Trends Anal. Chem. *26*, 466–485.

Huckins, J.N., Booij, K., Petty, J.D., Huckins, J.N., Booij, K., and Petty, J.D. (2006). Introduction to Passive Sampling. In Monitors of Organic Chemicals in the Environment, (Springer US), pp. 1–28.

Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., and Ventura, F. (2007). Ultraperformance Liquid Chromatography−Tandem Mass Spectrometry Analysis of Stimulatory Drugs of Abuse in Wastewater and Surface Waters. Anal. Chem. *79*, 3821–3829.

Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Martin-Alonso, J., and Ventura, F. (2008a). Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. Sci. Total Environ. *397*, 31–40.

Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., and Ventura, F. (2008b). Stimulatory Drugs of Abuse in Surface Waters and Their Removal in a Conventional Drinking Water Treatment Plant. Environ. Toxicol. Chem. *42*, 6809–6816.

Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., and 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.

Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., and Ventura, F. (2011). Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. Water Res. *45*, 1432–1442.

Hummel, D., Löffler, D., Fink, G., and 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.

Ibáñez, M., Gracia-Lor, E., Bijlsma, L., Morales, E., Pastor, L., and Hernández, F. (2013). Removal of emerging contaminants in sewage water subjected to advanced oxidation with ozone. J. Hazard. Mater. *260*, 389–398.

Idder, S. (2012). Etat de la contamination des eaux du département de la Dordogne par les résidus de médicaments. Bordeaux 1.

Idder, S., Ley, L., Mazellier, P., and Budzinski, H. (2013). Quantitative on-line preconcentration-liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method for the determination of pharmaceutical compounds in water. Anal. Chim. Acta *805*, 107–115.

IFEN (2004). La qualité de l'eau : une préoccupation environnementale forte (Institut Français de l'Evironnement).

INCB (2010). (International Narcotic Control Board) Psychotropic Substances: statistics for 2009.

Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Parrella, A., Previtera, L., and Rubino, M. (2005). Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. Sci. Total Environ. *348*, 93–101.

ISO 11352 (2012). Qualité de l'eau - Estimation de l'incertitude de mesure basée sur des données de validation et de contrôle qualité.

ISO/CEI 17025 (2005). Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais.

IUPAC IUPAC goldbook (goldbook.iupac.org).

JORF (1990). (Journal Officile de la République Française), Arrêté du 22 février 1990 fixant la liste des substances classées comme psychotropes - Version consolidée au 03 août 2012.

JORF (2011). (Journal Officiel de la République Française), Arrêté du 29 juin 2011 portant application d'une partie de la réglementation des stupéfiants aux produits contenant des nitrites d'alkyle aliphatiques, cycliques ou hétérocycliques et leurs isomères.

Kadlubar, S., and Kadlubar, F.F. (2010). Enzymatic Basis of Phase I and Phase II Drug Metabolism Enzyme- and Transporter-Based Drug-Drug Interactions. K.S. Pang, A.D. Rodrigues, and R.M. Peter, eds. (Springer New York), pp. 3–25.

Kanous, N., and Gidal, B. (2012). Antiepileptic Drugs. In Handbook of Drug Interactions, A. Mozayani, and L. Raymon, eds. (Humana Press), pp. 117–157.

Karolak, S., Nefau, T., Bailly, E., Solgadi, A., and Levi, Y. (2010). Estimation of illicit drugs consumption by wastewater analysis in Paris area (France). Forensic Sci. Int. *200*, 153–160.

Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., and Guwy, A.J. (2007). Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography–positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A *1161*, 132–145.

Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R., and Guwy, A. (2008a). Multiresidue methods for the analysis of pharmaceuticals, personal care products and illicit drugs in surface water and wastewater by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. *391*, 1293–1308.

Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., and Guwy, A.J. (2008b). The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. Water Res. *42*, 3498–3518.

Kim, I., and Tanaka, H. (2009). Photodegradation characteristics of PPCPs in water with UV treatment. Environ. Int. *35*, 793–802.

Klosterhaus, S.L., Grace, R., Hamilton, M.C., and 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.

Kohoutek, J., Maršálek, B., and Bláha, L. (2010). Evaluation of the novel passive sampler for cyanobacterial toxins microcystins under various conditions including field sampling. Anal. Bioanal. Chem. *397*, 823–828.

Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., and Buxton, H.T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. Environ. Sci. Technol. *36*, 1202–1211.

Kosjek, T., Heath, E., and Krbavčič, A. (2005). Determination of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) residues in water samples. Environ. Int. *31*, 679–685.

Kosjek, T., Perko, S., Zupanc, M., Zanoški Hren, M., Landeka Dragičević, T., Žigon, D., Kompare, B., and Heath, E. (2012). Environmental occurrence, fate and transformation of benzodiazepines in water treatment. Water Res. *46*, 355–368.

Koutsouba, V., Heberer, T., Fuhrmann, B., Schmidt-Baumler, K., Tsipi, D., and Hiskia, A. (2003). Determination of polar pharmaceuticals in sewage water of Greece by gas chromatography–mass spectrometry. Chemosphere *51*, 69–75.

Kümmerer, K. (2008). Pharmaceuticals in the Environment. (Springer Berlin Heidelberg) p. 3-21. ISBN : 978-3-540-74664-5.

Kwon, J., and Armbrust, K.L. (2004). Hydrolysis and photolysis of paroxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor, in aqueous solutions. Environ. Toxicol. Chem. *23*, 1394–1399.

Kwon, J., and Armbrust, K.L. (2005). Degradation of citalopram by simulated sunlight. Environ. Toxicol. Chem. *24*, 1618–1623.

Kwon, J., and Armbrust, K.L. (2006). Laboratory persistence and fate of fluoxetine in aquatic environments. Environ. Toxicol. Chem. *25*, 2561–2568.

Lajeunesse, A., Gagnon, C., and Sauvé, S. (2008). Determination of Basic Antidepressants and Their N-Desmethyl Metabolites in Raw Sewage and Wastewater Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography−Tandem Mass Spectrometry. Anal. Chem. *80*, 5325–5333.

Lajeunesse, A., Smyth, S.A., Barclay, K., Sauvé, S., and 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.

Lalovic, B., Kharasch, E., Hoffer, C., Risler, L., Liu-Chen, L.-Y., and Shen, D.D. (2006). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral oxycodone in healthy human subjects: Role of circulating active metabolites. Clin. Pharmacol. Ther. *79*, 461–479.

Lam, M.W., and Mabury, S.A. (2005). Photodegradation of the pharmaceuticals atorvastatin, carbamazepine, levofloxacin, and sulfamethoxazole in natural waters. Aquat. Sci. *67*, 177–188.

De Lange, H.J., Noordoven, W., Murk, A.J., LÃ¼rling, M., and Peeters, E.T.H.M. (2006). Behavioural responses of Gammarus pulex (Crustacea, Amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals. Aquat. Toxicol. *78*, 209–216.

Lardy-Fontan, S. (2008). Les substances émergentes dans les écosystèmes aquatiques français. Une application aux alkylphénol-polyéthoxylés et aux substances pharmaceutiques. Université Bordeaux 1, école doctorale des sciences chimiques.

Lavison, G., Candido, P., Couturier, G., and Joyeux, P. (2013). Présentation orale : “Quid de la présence de résidus médicamenteux dans les eaux parisiennes ?” (10ème congrès francophone de l’AfSep sur les sciences séparatives et les couplages - Paris, 4-7 juin 2013).

Lecadet, J., Vallier, N., Fender, P., Allemand, H., and Mediapath group (2003). Médicaments psychotropes: consommation et pratiques de prescription en France métropolitaine. I. Données nationales, 2000. Revue Médicale de l'Assurance Maladie *34*, 75–84.

Leclercq, M., Mathieu, O., Gomez, E., Casellas, C., Fenet, H., and Hillaire-Buys, D. (2009). Presence and Fate of Carbamazepine, Oxcarbazepine, and Seven of Their Metabolites at Wastewater Treatment Plants. Arch Environ Contam Toxicol *56*, 408–415.

Li, H., Helm, P.A., and Metcalfe, C.D. (2010a). Sampling in the Great Lakes for pharmaceuticals, personal care products, and endocrine-disrupting substances using the passive polar organic chemical integrative sampler. Environ. Toxicol. Chem. *29*, 751–762.

Li, H., Vermeirssen, E.L.M., Helm, P.A., and Metcalfe, C.D. (2010b). 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, H., Helm, P.A., Paterson, G., and 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, Z.-H., Zlabek, V., Velisek, J., Grabic, R., Machova, J., and Randak, T. (2009). Responses of antioxidant status and Na+,K+-ATPase activity in gill of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss, chronically treated with carbamazepine. Chemosphere *77*, 1476–1481.

Lindqvist, N., Tuhkanen, T., and Kronberg, L. (2005). Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. Water Res. *39*, 2219–2228.

Lissalde, S. (2010). Application et validation des échantillonneurs passifs du type POCIS pour l'échantillonnage intégré des pesticides dans les eaux du bassin versant charentais. Université de Poitiers - école doctorale des sciences pour l'environnement Gay Lussac.

Löffler, D., Römbke, J., Meller, M., and Ternes, T.A. (2005). Environmental Fate of Pharmaceuticals in Water/Sediment Systems. Environ. Sci. Technol. *39*, 5209–5218.

Loos, R., Carvalho, R., António, D.C., Comero, S., Locoro, G., Tavazzi, S., Paracchini, B., Ghiani, M., Lettieri, T., Blaha, L., et al. (2013). EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. Water Res. *47*, 6475–6487.

Lopez, B., and Laurent, A. (2013). Campagne exceptionnelle d'analyse des substances présentes dans les eaux souterraines de métropole. Rapport final. BRGM/RP-61853-FR.

López-Serna, R., Kasprzyk-Hordern, B., Petrović, M., and Barceló, D. (2013). Multi-residue enantiomeric analysis of pharmaceuticals and their active metabolites in the Guadalquivir River basin (South Spain) by chiral liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. *405*, 5859–5873.

Macdonald, R.L., and Kelly, K.M. (1995). Antiepileptic Drug Mechanisms of Action. Epilepsia *36*, S2–S12.

MacLeod, S.L., Sudhir, P., and Wong, C.S. (2007a). Stereoisomer analysis of wastewater-derived β-blockers, selective serotonin re-uptake inhibitors, and salbutamol by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A *1170*, 23–33.

MacLeod, S.L., McClure, E.L., and Wong, C.S. (2007b). Laboratory calibration and field deployment of the Polar organic chemical integrative sampler for pharmaceuticals and personal care products in wastewater and surface water. Environ. Toxicol. Chem. *26*, 2517–2529.

Martínez Bueno, M.J., Uclés, S., Hernando, M.D., and Fernández-Alba, A.R. (2011). Development of a solvent-free method for the simultaneous identification/quantification of drugs of abuse and their metabolites in environmental water by LC–MS/MS. Talanta *85*, 157–166.

MAS (2014). disponible sur : http://www.sante.gouv.fr/plan-national-sur-les-residus-de-medicaments-dans-les-eaux-pnrm-2010-2015,1794.html (Ministère des Affaires sociales et de la Santé).

Mashkovskii, M.D., and Glushkov, R.G. (2001). Drugs for the Treatment of Alzheimer's Disease. Pharmaceutical Chemistry Journal *35*, 179–182.

Matamoros, V. (2012). 1.13 - Equipment for Water Sampling Including Sensors. In Comprehensive Sampling and Sample Preparation, J. Pawliszyn, ed. (Oxford: Academic Press), pp. 247–263.

Matthiessen, P., Arnold, D., Johnson, A.C., Pepper, T.J., Pottinger, T.G., and Pulman, K.G.T. (2006). Contamination of headwater streams in the United Kingdom by oestrogenic hormones from livestock farms. Sci. Total Environ. *367*, 616–630.

Mazzella, N., Coquery, M., Berho, C., Ghestem, J.-P., Togola, A., Gonzalez, J.-L., Tixier, C., and Lardy-Fontan, S. (2011). Applicabilité des échantillonneurs passifs dans le cadre de la DCE (Irstea).

McLean, M.J., Schmutz, M., Wamil, A.W., Olpe, H.R., Portet, C., and Feldmann, K.F. (1994). Oxcarbazepine: mechanisms of action. Epilepsia *35 Suppl 3*, S5–9.

McPherson, M.L., and Uritsky, T.J. (2011). Pharmacotherapy of Pain in Older Adults: Nonopioid. In Handbook of Pain Relief in Older Adults, F.M. Gloth, ed. (Totowa, NJ: Humana Press), pp. 57–81.

MEDDE (2010). Plan micropolluants 2010-2013 : Un plan national pour lutter contre la pollution des millieux aquatiques (Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie).

MEDDE (2012). Prévenir les risques sanitaires environnementaux, Feuille de route pour la transition écologique, La Conférence Environnementale - disponible sur : http://www.developpement-durable.gouv.fr/La-feuille-de-route-pour-la.html (Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie).

Meinrath, G., and Schneider, P. (2007). Concepts of Metrology. In Quality Assurance for Chemistry and Environmental Science, (Springer Berlin Heidelberg), pp. 1–140.

Mennigen, J.A., Lado, W.E., Zamora, J.M., Duarte-Guterman, P., Langlois, V.S., Metcalfe, C.D., Chang, J.P., Moon, T.W., and Trudeau, V.L. (2010). Waterborne fluoxetine disrupts the reproductive axis in sexually mature male goldfish, Carassius auratus. Aquat. Toxicol. *100*, 354–364.

Metcalfe, C.D., Koenig, B.G., Bennie, D.T., Servos, M., Ternes, T.A., and Hirsch, R. (2003). Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. Environ. Toxicol. Chem. *22*, 2872–2880.

Minagh, E., Hernan, R., O'Rourke, K., Lyng, F.M., and Davoren, M. (2009). Aquatic ecotoxicity of the selective serotonin reuptake inhibitor sertraline hydrochloride in a battery of freshwater test species. Ecotoxicol. Environ. Saf. *72*, 434–440.

Molinuevo, J.L., Lladó, A., and Rami, L. (2005). Memantine: Targeting glutamate excitotoxicity in Alzheimer's disease and other dementias. AM J ALZHEIMERS DIS OTHER DEMEN *20*, 77–85.

Mompelat, S., Le Bot, B., and Thomas, O. (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. Environ. Int. *35*, 803–814.

Mompelat, S., Jaffrezic, A., Jardé, E., and Le Bot, B. (2013). Storage of natural water samples and preservation techniques for pharmaceutical quantification. Talanta *109*, 31–45.

Morin, N., Miège, C., Coquery, M., and Randon, J. (2012). Chemical calibration, performance, validation and applications of the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) in aquatic environments. TrAC, Trends Anal. Chem. *36*, 144–175.

Morin, N., Camilleri, J., Cren-Olivé, C., Coquery, M., and Miège, C. (2013). Determination of uptake kinetics and sampling rates for 56 organic micropollutants using "pharmaceutical" POCIS. Talanta *109*, 61–73.

Nahas, G., Latour, C., and Trouve, R. (1992). Potentialisation des effets toxiques aigus de la cocaïne par l'alcool éthylique. Bull. Acad. Natl. Med. *176*, 193–197.

Nahler, G. (2009). metabolite Dictionary of Pharmaceutical Medicine. (Springer Vienna), pp. 113–113.

Nakamura, Y., Yamamoto, H., Sekizawa, J., Kondo, T., Hirai, N., and Tatarazako, N. (2008). The effects of pH on fluoxetine in Japanese medaka (Oryzias latipes): acute toxicity in fish larvae and bioaccumulation in juvenile fish. Chemosphere *70*, 865–873.

Nefau, T., Karolak, S., Castillo, L., Boireau, V., and Levi, Y. (2013). Presence of illicit drugs and metabolites in influents and effluents of 25 sewage water treatment plants and map of drug consumption in France. Sci. Total Environ. *461–462*, 712–722.

Nentwig, G. (2007). Effects of Pharmaceuticals on Aquatic Invertebrates. Part II: The Antidepressant Drug Fluoxetine. Arch. Environ. Contam. Toxicol. *52*, 163–170.

Newby, N.C., Robinson, J.W., Vachon, P., Beaudry, F., and Stevens, E.D. (2008). Pharmacokinetics of morphine and its metabolites in freshwater rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). J. Vet. Pharmacol. Ther. *31*, 117–127.

NF T90-210 (2009). Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire.

NORMAN Glossary of terms. Http://www.norman-Network.net/index_php.php?module=public/others/glossary.

NORMAN NORMAN's network EMPODAT database. Www.normandata.eu/empodat_index.php.

Van Nuijs, A., Tarcomnicu, I., Simons, W., Bervoets, L., Blust, R., Jorens, P., Neels, H., and Covaci, A. (2010). Optimization and validation of a hydrophilic interaction liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of 13 top-prescribed pharmaceuticals in influent wastewater. Anal. Bioanal. Chem. *398*, 2211–2222.

Van Nuijs, A.L.N., Pecceu, B., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P.G., Bervoets, L., Blust, R., Neels, H., and Covaci, A. (2009a). Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium. Environ. Pollut. *157*, 123–129.

Van Nuijs, A.L.N., Tarcomnicu, I., Bervoets, L., Blust, R., Jorens, P.G., Neels, H., and Covaci, A. (2009b). Analysis of drugs of abuse in wastewater by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. *395*, 819–828.

Nunes, B., Gaio, A.R., Carvalho, F., and Guilhermino, L. (2008). Behaviour and biomarkers of oxidative stress in Gambusia holbrooki after acute exposure to widely used pharmaceuticals and a detergent. Ecotoxicol. Environ. Saf. *71*, 341–354.

Nuovo, J. (2007). Depression. In Chronic Disease Management, (Springer New York), pp. 333–345.

OFDT (2013). Drogues et addictions, données essentielles (Saint-Denis: OFDT).

Offermanns, S., and Rosenthal, W. (2008a). Phase I and Phase II Metabolism Encyclopedia of Molecular Pharmacology. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 960–961.

Offermanns, S., Rosenthal, W., and Rudolph, U. (2008b). Benzodiazepines. In Encyclopedia of Molecular Pharmacology, (Springer Berlin Heidelberg), pp. 251–254.

Oggier, D.M., Weisbrod, C.J., Stoller, A.M., Zenker, A.K., and Fent, K. (2010). Effects of Diazepam on Gene Expression and Link to Physiological Effects in Different Life Stages in Zebrafish Danio rerio. Environ. Sci. Technol. *44*, 7685–7691.

ONEMA (2013). Préserver les ressources en eau et les milieux aquatiques. Qu'en pensent les Français ? - Résultats de la 2ème édition du baromètre de l'opinion sur l'eau (Office National de l'eau et des Milieux Aquatiques).

Ort, C., Hollender, J., Schaerer, M., and Siegrist, H. (2009). Model-Based Evaluation of Reduction Strategies for Micropollutants from Wastewater Treatment Plants in Complex River Networks. Environ. Sci. Technol. *43*, 3214–3220.

Ort, C., Lawrence, M.G., Reungoat, J., and Mueller, J.F. (2010a). 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., and Joss, A. (2010b). 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.

Painter, M.M., Buerkley, M.A., Julius, M.L., Vajda, A.M., Norris, D.O., Barber, L.B., Furlong, E.T., Schultz, M.M., and Schoenfuss, H.L. (2009). Antidepressants at environmentally relevant concentrations affect predator avoidance behavior of larval fathead minnows (Pimephales promelas). Environ. Toxicol. Chem. *28*, 2677–2684.

Parlement Européen, Conseil (2000). Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau (Journal officiel des Communautés européennes. L. Législation 327 du 22.12.2000).

Parlement Européen, Conseil (2008). Directive 2008/105/CE du parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008 établissant des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau, modifiant et abrogeant les directives du Conseil 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/280/CEE et modifiant la directive 2000/60/CE (Journal officiel des Communautés européennes. L. Législation 348 du 24.12.2008).

Parlement Européen, Conseil (2013). Directive 2013/39/UE du parlement européen et du conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau (Journal officiel des Communautés européennes. L. Législation 226 du 24.8.2013).

Pascoe, D., Karntanut, W., and MÃ¼ller, C.T. (2003). Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian Hydra vulgaris. Chemosphere *51*, 521–528.

Patrolecco, L., Ademollo, N., Grenni, P., Tolomei, A., Barra Caracciolo, A., and Capri, S. (2013). Simultaneous determination of human pharmaceuticals in water samples by solid phase extraction and HPLC with UV-fluorescence detection. Microchem. J. *107*, 165–171.

Pelt, J.M. (1983). Drogues et plantes magiques.

Le Pen, C., Lemasson, H., Roulliere-Lelidec, C., Les Entreprises du Médicament. . Paris, F.R.A., and Ims Health. Paris, F.R.A. com (2007). La consommation médicamenteuse dans 5 pays européens : une réévaluation (Paris: LEEM).

Petrovic, M., Petrovic, M., and Barceló, D. (2007). LC-MS for identifying photodegradation products of pharmaceuticals in the environment. TrAC, Trends Anal. Chem. *26*, 486–493.

Petrovic, M., Farré, M., de Alda, M.L., Perez, S., Postigo, C., Köck, M., Radjenovic, J., Gros, M., and Barcelo, D. (2010). Recent trends in the liquid chromatography-mass spectrometry analysis of organic contaminants in environmental samples. J. Chromatogr. A *1217*, 4004–4017.

Petrović, M., Škrbić, B., Živančev, J., Ferrando-Climent, L., and Barcelo, D. (2014). Determination of 81 pharmaceutical drugs by high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry with hybrid triple quadrupole–linear ion trap in different types of water in Serbia. Sci. Total Environ. *468–469*, 415–428.

Pichon, V. (2006). Extraction sur phase solide pour l'analyse de composés organiques. Techniques de l'Ingénieur *P1450*.

La Point, T.W., and Waller, W.T. (2000). Field assessments in conjunction with whole effluent toxicity testing. Environ. Toxicol. Chem. *19*, 14–24.

Poseidon (2006). Assessment of Technologies for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Sewage and Drinking Water Facilities to Improve the Indirect Potable Water Reuse (Poseidon final report).

Postigo, C., Lopez de Alda, M.J., and Barcelo, D. (2008). Fully Automated Determination in the Low Nanogram per Liter Level of Different Classes of Drugs of Abuse in Sewage Water by On-Line Solid-Phase Extraction-Liquid Chromatography−Electrospray-Tandem Mass Spectrometry. Anal. Chem. *80*, 3123–3134.

Postigo, C., López de Alda, M.J., and Barceló, D. (2010). Drugs of abuse and their metabolites in the Ebro River basin: Occurrence in sewage and surface water, sewage treatment plants removal efficiency, and collective drug usage estimation. Environ. Int. *36*, 75–84.

Py, J.S., Rosin, C., and Munoz, J.F. (2010). Essai inter-laboratoires sur les résidus médicamenteux dans les eaux destinées à la consommation humaine (AFSSA).

Quinn, B., Gagné, F., and Blaise, C. (2008). The effects of pharmaceuticals on the regeneration of the cnidarian, Hydra attenuata. Sci. Total Environ. *402*, 62–69.

Quintana, J.B., Rodil, R., Muniategui-Lorenzo, S., López-Mahía, P., and Prada-Rodríguez, D. (2007). Multiresidue analysis of acidic and polar organic contaminants in water samples by stir-bar sorptive extraction-liquid desorption-gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr. A *1174*, 27–39.

Rabiet, M., Togola, A., Brissaud, F., Seidel, J.-L., Budzinski, H., and Elbaz-Poulichet, F. (2006). Consequences of Treated Water Recycling as Regards Pharmaceuticals and Drugs in Surface and Ground Waters of a Medium-sized Mediterranean Catchment. Environ. Sci. Technol. *40*, 5282–5288.

Racamonde, I., Rodil, R., Quintana, J.B., and Cela, R. (2013). In-sample derivatization-solid-phase microextraction of amphetamines and ecstasy related stimulants from water and urine. Anal. Chim. Acta *770*, 75–84.

Raihle, J.A., and Papendick, V.E. (1975). Clorazepate Dipotassium. In Klaus Florey (Eds.), Analytical Profiles of Drug Substances, pp. 91–112.

Ramirez, A.J., Brain, R.A., Usenko, S., Mottaleb, M.A., O'Donnell, J.G., Stahl, L.L., Wathen, J.B., Snyder, B.D., Pitt, J.L., Perez-Hurtado, P., et al. (2009). Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in fish: Results of a national pilot study in the united states. Environ. Toxicol. Chem. *28*, 2587–2597.

Repice, C., Grande, M.D., Maggi, R., and Pedrazzani, R. (2013). Licit and illicit drugs in a wastewater treatment plant in Verona, Italy. Sci. Total Environ. *463–464*, 27–34.

Ribeiro, A.R., Castro, P.M.L., and Tiritan, M.E. (2012). Chiral pharmaceuticals in the environment. Environmental Chemistry Letters *10*, 239–253.

Richard, C., and Canonica, S. (2005). Aquatic Phototransformation of Organic Contaminants Induced by Coloured Dissolved Natural Organic Matter. In Environmental Photochemistry Part II, P. Boule, D.W. Bahnemann, and P.K.J. Robertson, eds. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 299–323.

Richards, S., and Cole, S. (2006). A toxicity and hazard assessment of fourteen pharmaceuticals to *Xenopus laevis* larvae. Ecotoxicology *15*, 647–656.

Richards, S., Kelly, S., and Hanson, M. (2008). Zooplankton Chitobiase Activity as an Endpoint of Pharmaceutical Effect. Arch. Environ. Contam. Toxicol. *54*, 637–644.

Richards, S.M., Wilson, C.J., Johnson, D.J., Castle, D.M., Lam, M., Mabury, S.A., Sibley, P.K., and Solomon, K.R. (2004). Effects of pharmaceutical mixtures in aquatic microcosms. Environ. Toxicol. Chem. *23*, 1035–1042.

Richardson, S.D. (2010). Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues. Anal. Chem. *82*, 4742–4774.

Richardson, S.D., and Ternes, T.A. (2011). Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. Anal. Chem. *83*, 4614–4648.

Rodríguez, I., Carpinteiro, J., Quintana, J.B., Carro, A.M., Lorenzo, R.A., and Cela, R. (2004). Solid-phase microextraction with on-fiber derivatization for the analysis of anti-inflammatory drugs in water samples. J. Chromatogr. A *1024*, 1–8.

Rúa-Gómez, P.C., and Püttmann, W. (2013). Degradation of lidocaine, tramadol, venlafaxine and the metabolites O-desmethyltramadol and O-desmethylvenlafaxine in surface waters. Chemosphere *90*, 1952–1959.

Rujiralai, T., Bull, I.D., Llewellyn, N., and Evershed, R.P. (2011). In situ polar organic chemical integrative sampling (POCIS) of steroidal estrogens in sewage treatment works discharge and river water. J. Environ. Monit. *13*, 1427–1434.

Santos, J.L., Aparicio, I., Alonso, E., and Callejón, M. (2005). Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors. Anal. Chim. Acta *550*, 116–122.

Santos, L.H.M.L.M., Araújo, A.N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., and Montenegro, M.C.B.S.M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. J. Hazard. Mater. *175*, 45–95.

Scheytt, T., Mersmann, P., Lindstädt, R., and Heberer, T. (2005). 1-Octanol/Water Partition Coefficients of 5 Pharmaceuticals from Human Medical Care: Carbamazepine, Clofibric Acid, Diclofenac, Ibuprofen, and Propyphenazone. Water, Air, Soil Pollut. *165*, 3–11.

Schmidt, M.M., Sharma, A., Schifano, F., and Feinmann, C. (2011). “Legal highs” on the net—Evaluation of UK-based Websites, products and product information. Forensic Sci. Int. *206*, 92–97.

Schmitt-Jansen, M., Bartels, P., Adler, N., and Altenburger, R. (2007). Phytotoxicity assessment of diclofenac and its phototransformation products. Anal. Bioanal. Chem. *387*, 1389–1396.

Schultz, M.M., and Furlong, E.T. (2008). Trace Analysis of Antidepressant Pharmaceuticals and Their Select Degradates in Aquatic Matrixes by LC/ESI/MS/MS. Anal. Chem. *80*, 1756–1762.

Schultz, M.M., Furlong, E.T., Kolpin, D.W., Werner, S.L., Schoenfuss, H.L., Barber, L.B., Blazer, V.S., Norris, D.O., and 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., and 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.

Shima, N., Kamata, H., Katagi, M., Tsuchihashi, H., Sakuma, T., and Nemoto, N. (2007). Direct determination of glucuronide and sulfate of 4-hydroxy-3-methoxymethamphetamine, the main metabolite of MDMA, in human urine. J. Chromatogr. B *857*, 123–129.

Sibony, J., and Bigot, B. (1993). Traitement des eaux usées urbaines. Techniques de l’Ingénieur, Traité Construction *C4230*.

Soulet, B., Tauxe, A., and Tarradellas, J. (2002). Analysis of Acidic Drugs in Swiss Wastewaters. Int. J. Environ. Anal. Chem. *82*, 659–667.

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, école doctorale des sciences chimiques.

Soulier, C., Gabet, V., Lardy-Fontan, S., Lemenach, K., Pardon, P., Esperanza, M., Miège, C., Choubert, J.-M., Martin, S., Bruchet, A., et al. (2011). Zoom sur les substances pharmaceutiques : présence, partition, devenir en station d’épuration. Techniques Sciences et Méthodes 63–77.

Southworth, G.R., and Keller, J.L. (1986). Hydrophobic sorption of polar organics by low organic carbon soils. Water, Air, Soil Pollut. *28*, 239–248.

Stanley, J.K., Ramirez, A.J., Chambliss, C.K., and Brooks, B.W. (2007). Enantiospecific sublethal effects of the antidepressant fluoxetine to a model aquatic vertebrate and invertebrate. Chemosphere *69*, 9–16.

Stein, D.J. (2010). Sedative, Hypnotic, and Anxiolytic Dependence. In Encyclopedia of Psychopharmacology, (Springer Berlin Heidelberg), pp. 1194–1196.

Straub, J.O., and Kümmerer, K. (2008). Deterministic and Probabilistic Environmental Risk Assessment for Diazepam Pharmaceuticals in the Environment. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 343–383.

Stumpf, M., Ternes, T.A., Wilken, R.-D., Silvana Vianna, R., and Baumann, W. (1999). Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. Sci. Total Environ. *225*, 135–141.

Sui, Q., Huang, J., Deng, S., Chen, W., and Yu, G. (2011). Seasonal Variation in the Occurrence and Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Different Biological Wastewater Treatment Processes. Environ. Sci. Technol. *45*, 3341–3348.

Syracuse Research Corporation (SRC) PhysProp Database.

Tahar, A., Miège, C., Choubert, J.-M., and Coquery, M. (2012). Vers la prédiction des rendements d'élimination de micropolluants organiques : cas des boues activées aération prolongée (ONEMA - CEMAGREF).

Tauxe-Wuersch, A., De Alencastro, L.F., Grandjean, D., and Tarradellas, J. (2005). Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. Water Res. *39*, 1761–1772.

Taylor, C.P., Gee, N.S., Su, T.-Z., Kocsis, J.D., Welty, D.F., Brown, J.P., Dooley, D.J., Boden, P., and Singh, L. (1998). A summary of mechanistic hypotheses of gabapentin pharmacology. Epilepsy Res. *29*, 233–249.

Ternes, T.A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. Water Res. *32*, 3245–3260.

Ternes, T., Kreckel, P., and Mueller, J. (1999). Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants — II. Aerobic batch experiments with activated sludge. Sci. Total Environ. *225*, 91–99.

Ternes, T., Bonerz, M., and Schmidt, T. (2001). Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A *938*, 175–185.

Terzic, S., and Ahel, M. (2011). Nontarget analysis of polar contaminants in freshwater sediments influenced by pharmaceutical industry using ultra-high-pressure liquid chromatography–quadrupole time-of-flight mass spectrometry. Environ. Pollut. *159*, 557–566.

Thomas, M., Rivault, F., Tranoy-Opalinski, I., Roche, J., Gesson, J.-P., and Papot, S. (2007). Synthesis and biological evaluation of the suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) β-glucuronide and β-galactoside for application in selective prodrug chemotherapy. Bioorg. Med. Chem. Lett. *17*, 983–986.

Tiseo, P.J., Perdomo, C.A., and Friedhoff, L.T. (1998). Metabolism and elimination of 14C-donepezil in healthy volunteers : a single-dose study. Br. J. Clin. Pharmacol. *46*, 19–24.

Togola, A. (2006). Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques. Université Bordeaux 1, école doctorale des sciences chimiques.

Togola, A., and Budzinski, H. (2007a). Analytical development for analysis of pharmaceuticals in water samples by SPE and GC–MS. Anal. Bioanal. Chem. *388*, 627–635.

Togola, A., and Budzinski, H. (2007b). Development of Polar Organic Integrative Samplers for Analysis of Pharmaceuticals in Aquatic Systems. Anal. Chem. *79*, 6734–6741.

Togola, A., and Budzinski, H. (2008a). Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. J. Chromatogr. A *1177*, 150–158.

Togola, A., Amalric, L., and Bristeau, S. (2008b). Les substances pharmaceutiques dans les eaux superficielles et souterraines du bassin Loire-Bretagne. Rapport Final *BRGM/RP-55578-FR*.

Tolls, J. (2001). Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review. Environ. Sci. Technol. *35*, 3397–3406.

Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., and Snyder, S.A. (2009). On-line solid phase extraction LC-MS/MS analysis of pharmaceutical indicators in water: a green alternative to conventional methods. Talanta *79*, 1425–1432.

Triebskorn, R., Casper, H., Heyd, A., Eikemper, R., Köhler, H.R., and Schwaiger, J. (2004). Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac: Part II. Cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquat. Toxicol. *68*, 151–166.

UNEP (2012). Scoping Study - International Water Quality Guidelines for Aquatic Ecosystems (UN-WATER Thematic priority area on water quality small scale fungind agreement - Project No. 2011-CPL-5060-3B41-1131-2201) (UNEP/IWAG-TU).

UNODC (2010). (United Nation Office on Drugs and Crime), World Drug Report 2010 (United Nations Publication, Sales No. E.10.XI.13: United Nation Office on Drugs and Crime).

Valcárcel, Y., González Alonso, S., Rodríguez-Gil, J.L., Gil, A., and Catalá, M. (2011). Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. Chemosphere *84*, 1336–1348.

Valcárcel, Y., Martínez, F., González-Alonso, S., Segura, Y., Catalá, M., Molina, R., Montero-Rubio, J.C., Mastroianni, N., López de Alda, M., Postigo, C., et al. (2012). Drugs of abuse in surface and tap waters of the Tagus River basin: Heterogeneous photo-Fenton process is effective in their degradation. Environ. Int. *41*, 35–43.

Valenti, T.W.J., Perez-Hurtado, P., Chambliss, C.K., and Brooks, B.W. (2009). Aquatic toxicity of sertraline to Pimephales promelas at environmentally relevant surface water pH. Environ. Toxicol. Chem. *28*, 2685–2694.

Vanderford, B.J., and Snyder, S.A. (2006). Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Environ. Sci. Technol. *40*, 7312–7320.

Vanderford, B.J., Mawhinney, D.B., Trenholm, R.A., Zeigler-Holady, J.C., and Snyder, S.A. (2011). Assessment of sample preservation techniques for pharmaceuticals, personal care products, and steroids in surface and drinking water. Anal. Bioanal. Chem. *399*, 2227–2234.

Vanderford, B.J., Drewes, Jörg E., Hoppe-Jones, C., Eaton, A., Haghani, A., Guo, Y., Snyder, S., Ternes, T., Schluesener, M., and Wood, C. (2012). Evaluation of Analytical Methods for EDCs and PPCPs Via Interlaboratory Comparison - Executive summary.

Vasskog, T., Berger, U., Samuelsen, P.-J., Kallenborn, R., and Jensen, E. (2006). Selective serotonin reuptake inhibitors in sewage influents and effluents from Tromsø, Norway. J. Chromatogr. A *1115*, 187–195.

Vasskog, T., Anderssen, T., Pedersen-Bjergaard, S., Kallenborn, R., and Jensen, E. (2008). Occurrence of selective serotonin reuptake inhibitors in sewage and receiving waters at Spitsbergen and in Norway. J. Chromatogr. A *1185*, 194–205.

Vazquez-Roig, P., Andreu, V., Blasco, C., Morillas, F., and Picó, Y. (2012). Spatial distribution of illicit drugs in surface waters of the natural park of Pego-Oliva Marsh (Valencia, Spain). Environ. Sci. Pollut. Res. *19*, 971–982.

Van der Ven, K., Keil, D., Moens, L.N., van Leemput, K., van Remortel, P., and de Coen, W.M. (2006). Neuropharmaceuticals in the environment: Mianserin-induced neuroendocrine disruption in zebrafish (Danio rerio) using cDNA microarrays. Environ. Toxicol. Chem. *25*, 2645–2652.

Verplaetse, R., and Tytgat, J. (2010). Development and validation of a sensitive ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the analysis of fentanyl and its major metabolite norfentanyl in urine and whole blood in forensic context. J. Chromatogr. B *878*, 1987–1996.

Vieno, N.M., Tuhkanen, T., and 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.

VIM - JCGM (2008). Vocabulaire International de métrologie - Concepts fondamentaux et généraux et termes associés (VIM).

Vrana, B., Allan, I.J., Greenwood, R., Mills, G.A., Dominiak, E., Svensson, K., Knutsson, J., and Morrison, G. (2005). Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. TrAC, Trends Anal. Chem. *24*, 845–868.

Vrana, B., Vermeirssen, E.L.M., Allan, I.J., Kohoutek, J., Kennedy, K., Mills, G.A., and Greenwood, R. (2009). Passive sampling of emerging pollutants in the aquatic environment: state of the art and perspectives. Position Paper.

Vulliet, E., and 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.

Walker, M.C., and Patsalos, P.N. (1995). Clinical pharmacokinetics of new antiepileptic drugs. Pharmacol. Ther. *67*, 351–384.

Wang, L.K., Wu, Z., and Shammas, N.K. (2009). Activated Sludge Processes Biological Treatment Processes. L.K. Wang, N.C. Pereira, and Y.-T. Hung, eds. (Humana Press), pp. 207–281.

WHO (1961). Convention de 1961 sur les stupéfiants telle que modifiée par le Protocole de 1972 portant amendement de la Convention unique sur les stupéfiants de 1961 (Organisation des Nations Unies).

WHO (1971). Convention de 1971 sur les substances psychotropes (Organisation des Nations Unies).

WHO (2005). Atlas: epilepsy care in the worlds 2005 - ISBN : 92-4-156303-6 (World Health Organization).

WHO (2009). Pharmacological treatment of mental disorders in primary health care (World Health Organization).

WHO (2012). Dementia: Fact sheet N°362 (World Health Organization).

WHOCC (2002). WHO Collaborating Center for Drug Statistics Methodology : http://www.whocc.no/atc_ddd_index/.

WHOCC (2010). WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, Guidelines for ATC classification and DDD assignment 2011 (ISBN 978-82-8082-438-7).

Wick, A., Fink, G., Joss, A., Siegrist, H., and Ternes, T.A. (2009). Fate of beta blockers and psycho-active drugs in conventional wastewater treatment. Water Res. *43*, 1060–1074.

Winder, V.L., Sapozhnikova, Y., Pennington, P.L., and Wirth, E.F. (2009). Effects of fluoxetine exposure on serotonin-related activity in the sheepshead minnow (Cyprinodon variegatus) using LC/MS/MS detection and quantitation. Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. *149*, 559–565.

Wolf, L., Held, I., Eiswirth†, M., and Hötzl, H. (2004). Impact of Leaky Sewers on Groundwater Quality. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica *32*, 361–373.

Writer, J.H., Ferrer, I., Barber, L.B., and Thurman, E.M. (2013). Widespread occurrence of neuro-active pharmaceuticals and metabolites in 24 Minnesota rivers and wastewaters. Sci. Total Environ. *461–462*, 519–527.

Yargeau, V., Taylor, B., Li, H., Rodayan, A., and Metcalfe, C.D. (2013). Analysis of drugs of abuse in wastewater from two Canadian cities. Sci. Total Environ.

Zanger, U.M., and Eichelbaum, M. (2008). P450 Mono-oxygenase System Encyclopedia of Molecular Pharmacology. S. Offermanns, and W. Rosenthal, eds. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 921–927.

Zhang, Z., Hibberd, A., and Zhou, J.L. (2008). Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling. Anal. Chim. Acta *607*, 37–44.

Zuccato, E., Calamari, D., Natangelo, M., and Fanelli, R. (2000). Presence of therapeutic drugs in the environment. Lancet *355*, 1789–1790.

Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Calamari, D., Bagnati, R., Schiarea, S., and Fanelli, R. (2005). Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. Environ. Health *4*, 14.

Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Chiabrando, C., Grassi, P., and Fanelli, R. (2008). Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. Water Res. *42*, 961–968.

Système d'Information sur l'Eau (http://www.eaufrance.fr/?rubrique15&id_article=35).

Annexes

Chapitre 1

ANNEXE 1.1 – Coefficients de distribution et de partage 336
ANNEXE 1.2 – Le traitement des eaux usées 338
ANNEXE 1.3 – Prédiction des rendements d'élimination pour une sélection de composés psychotropes par traitement secondaire sur boues activées.....341

Chapitre 2

ANNEXE 2.1 – Techniques de préparation d'échantillons environnementaux utilisées dans la littérature 345
ANNEXE 2.2 – Phases stationnaires utilisées dans la littérature pour la séparation en chromatographie liquide de certains composés sélectionnés.....346
ANNEXE 2.3 – Types d'analyseurs de masses utilisés dans la littérature pour la caractérisation de certains composés sélectionnés 347

Chapitre 3

ANNEXE 3.1 – Techniques d'échantillonnage actif utilisées pour les analyses environnementales 348
ANNEXE 3.2 – Distribution des quantités mesurées entre les membranes et les échantillonneurs pour les analytes présentant un « lag time 349

Chapitre 4

ANNEXE 4.1 – Etude de la contamination d'effluents de STEP.....350
ANNEXE 4.2 – Etude de la contamination de la Jalle d'Eysines.....362
ANNEXE 4.4 – Concentrations mesurées dans les eaux de surface en Seine au niveau de la ville de Paris 368
ANNEXE 4.5 – Débits de la Seine et de la Marne au cours des campagnes de mesure.....380
ANNEXE 4.6 – Niveaux de contamination relatifs en paracétamol et en diclofénac par rapport à une sélection représentative de molécules psychotropes étudiées.....381

Chatipre 5

ANNEXE 5.1 – Calcul de l'incertitude-type composée de la concentration en analyte dans l'échantillon .382
ANNEXE 5.2 – Concentrations dans les eaux de la Seine et incertitudes laboratoires associées 384

ANNEXE 1.1 – Coefficients de distribution et de partage

Les paramètres physico-chimiques d'une molécule sont déterminants pour comprendre son devenir dans l'environnement. La lipophilie est notamment d'une importance majeure car elle détermine la propension d'une molécule à migrer de la phase liquide vers la phase solide. Le caractère lipophile d'un composé et donc sa tendance à se distribuer dans de nombreux compartiments environnementaux (Cunningham, 2008) est estimée par une série de coefficients eux-mêmes liés aux propriétés physico-chimiques des molécules.

Le coefficient de distribution K_{ow}, il exprime la distribution d'un composé entre la phase aqueuse et une phase hydrophobe d'octanol. Il s'agit du rapport de sa concentration dans l'une et l'autre des phases (Scheytt et al., 2005).

$$K_{ow} = C_{octanol}/C_{eau}$$

Ce coefficient est efficace pour décrire des composés neutres mais il révèle ses limites dans son application aux composés pharmaceutiques, qui possèdent souvent des fonctions chimiques ionisables à pH environnemental. Si l'ionisation n'est pas totale, c'est à dire si |pH-pKa|<2, les formes ionisées et neutres peuvent se répartir différemment, la première ayant une tendance plus hydrophile que la seconde.

Le coefficient apparent de distribution D_{ow} à un pH donné permet de tenir compte de ce phénomène et de ne pas surestimer le K_{ow} (Cunningham, 2008; Scheytt et al., 2005). Les Log D_{ow} pour certains composés ont été calculés à partir des log K_{ow} en utilisant la formule suivante (table 1.7, paragraphe 1.5.3).

$$D_{ow}=K_{ow}/(1+10^{|pH-pKa|})$$

Lorsque qu'un composé est présent dans le milieu uniquement sous sa forme non-dissociée (|pH-pKa|>2), le coefficient D_{ow} n'apparaît pas pertinent et seul le K_{ow} est considéré. C'est le cas par exemple pour la carbamazépine (pKa=14), qui à pH environnemental, est toujours sous sa forme non-dissociée. De plus, D_{ow} ne prend pas en compte la distribution des paires d'ions (Scheytt et al., 2005) et il n'est donc pas utile pour les composés zwitterioniques. Par ailleurs, ces derniers ne sont pas mieux décrits par leur K_{ow}. Kümmerer rapporte le cas de la cyprofloxacine, un antibiotique sous forme zwitterionique à pH environnemental (pKa=6,16 et 8) dont le log K_{ow} est négatif (-1,74 par calcul et –0,28 expérimentalement) mais qui démontre une adsorption importante sur la boue activée ou sur les sédiments à des niveaux attendus pour des composés ayant un log K_{ow} de 3 ou 4 (Kümmerer, 2008). Le coefficient de partition eau/octanol n'est donc pas une image fidèle de la réalité du terrain mais le reflet théorique d'une tendance à la partition où la phase solide est associée à de l'octanol.

Le coefficient de partage eau/solide K_d décrit le rapport de la concentration d'un composé entre les phases solide et aqueuse. Il est égal au produit entre le coefficient de partage octanol/carbone organique K_{oc} et la fraction en carbone organique du solide f_{oc} (Cunningham, 2008).

$$K_d = C_{adsorbé}/C_{eau} = K_{oc}.f_{oc}$$

Il existe plusieurs relations empiriques (Karickhoff *et al.*, Hassett *et al.*, Scharzenbach et Westall) pour déduire le K_{oc} du K_{ow}. Ces équations permettent de prédire

efficacement l'adsorption de composés peu ou non polaires dans des milieux à fraction de carbone organique moyenne ou élevée comme les boues d'épuration (Southworth et al., 1986). La prudence est donc de mise pour l'utilisation de ces modèles car ils ont été construits pour des composés donnés dans des conditions expérimentales définies. Ils reposent sur l'hypothèse que le mécanisme d'adsorption est dominé par la lipophilie. Or, dans le cas des substances pharmaceutiques les seules interactions hydrophile-hydrophobe ne suffisent pas à décrire tous les phénomènes de sorption. Les interactions d'échange et de pontage ionique, de liaisons hydrogènes ou encore de complexation pourraient également intervenir (Brooks et al., 2009; Cunningham, 2008; Tolls, 2001). L'établissement d'équations de régression spécifique pour des groupes de composés basés sur les fonctions chimiques (acides, bases ou zwitterioniques par exemple) constitue une solution possible à ce problème (Cunningham, 2008).

ANNEXE 1.2 – Le traitement des eaux usées

Le traitement préliminaire se divise en trois étapes le dégrillage-dessablage, le tamisage et le dégraissage. Le dégrillage et le dessablage permettent la séparation des matières solides volumineuses, le premier consiste en un passage des eaux brutes à travers des barreaux inclinés par rapport à l'horizontale et le second en une décantation simple lors de laquelle les matières minérales à forte densité sont éliminées. Le tamisage quant à lui repose sur le passage des eaux sur une toile ou une taule perforée ; ainsi les particules dont le diamètre est supérieur à 200 µm sont exclues. Enfin, le dégraissage, aussi appelé déshuilage, est une opération qui vise à l'éradication des matières non solubles ayant une densité inférieure à celle de l'eau. Après une période d'aération qui favorise la montée de ces particules grasses, la période de tranquillisation autorise la récupération de la boue flottante formée (Boeglin, 1999; Sibony et al., 1993).

Le traitement primaire rassemble les procédés physiques et physico-chimiques mis œuvre pour s'attaquer plus finement aux pollutions insolubles et de type colloïdale. Tout d'abord, une étape de décantation assure la clarification partielle des particules capables de se séparer sous la seule influence des forces gravitationnelles (granulométrie >50µm). Il existe deux types de décantation : simple et lamellaire. La seconde consiste en l'utilisation de plaques disposées de façon parallèle et inclinées par rapport à l'horizontal. Ainsi la surface de décantation disponible est accrue et pour des rendements équivalents, le temps de séjour se trouve considérablement réduit (Boeglin, 1999). L'élimination de la matière colloïdale stabilisée en suspension nécessite par la suite un traitement physico-chimique qui a pour but de rompre la stabilité des colloïdes. Tous les colloïdes n'ont pas le même comportement, deux catégories se distinguent. D'une part, les colloïdes hydrophiles présentent à leur surface une couche d'hydratation qui stabilise leur suspension due aux molécules d'eau liées par des interactions entre les groupements chimiques de la matière (acide carboxylique, amine, alcool). D'autre part les colloïdes hydrophobes dont la stabilité s'explique par des forces de répulsions électrostatiques exercées par les charges électriques portées par les particules et qui empêchent l'agglomération. L'ajout de sels minéraux en milieux aqueux conduit à la formation de précipités à forte surface spécifique leur conférant la capacité de piéger les colloïdes hydrophobes : c'est le phénomène de coagulation. Les principaux sels utilisés sont les sels d'aluminium et de fer, ces derniers permettent également l'élimination du phosphore en précipitant avec des ions phosphates (Boeglin, 2002; Sibony et al., 1993). La floculation fait intervenir des polymères organiques à longue chaîne qui vont agir tant sur les colloïdes hydrophobes qu'hydrophiles. Le plus souvent, les chaînes de ces floculants sont périodiquement fonctionnalisées par des groupements ionisables. Les agents cationiques vont s'adsorber à la surface des particules anioniques entraînant leur perte de charges et une chute des forces électrostatiques de répulsions (colloïdes hydrophobes) qui pourra conduire à l'agglomération. Les agents anioniques ou neutres vont, quant à eux, s'adsorber aux colloïdes hydrophiles par l'intermédiaire de liaisons chimiques créant des ponts qui par effet cumulatif conduisent à la formation de flocs (Boeglin, 2002; Sibony et al., 1993).
L'étape de coagulation-floculation suivie d'une décantation-flottation (décantation inverse) peut conduire à l'élimination de 90% des matières en suspension et de 40 à 65% de la DBO_5[5] (Sibony et al., 1993).

[5] DBO : *« Demande Biologique en Oxygène exprime la quantité d'oxygène qu'une biomasse épuratrice va consommer pour décomposer les matières organiques contenues dans l'effluent. Elle est donc représentative de la somme des matières organiques biodégradables, elle est généralement mesurée en 5 jours (DBO_5) »* (Sibony et al., 1993)

Le traitement secondaire repose sur la prolifération d'une flore bactérienne qui utilise la matière organique comme aliment. Cette épuration biologique s'effectue dans des conditions aérobies c'est à dire en présence d'oxygène, et fait appel à une culture bactérienne fixée sur un support (lits bactériens et biofiltres) ou sous forme libre (boue activée), cette dernière étant la plus courante (Boeglin, 1999; Delporte, 2007). En effet, les taux d'abattement de DBO_5 des lits bactériens, fortement dépendants de l'hydraulique et de l'épaisseur du biofilm, sont nettement inférieurs à ceux observés en culture libre (Delporte, 2007). Les boues activées sont des flocs biologiques constitués d'un mélange de microorganismes ainsi que de matières organiques et inorganiques. Les microorganismes présents peuvent être de natures variées : bactéries, champignons, protozoaires voire rotifères, larves d'insectes ou vers (Wang et al., 2009). L'ensemble de cette biomasse « active » au sein de l'eau à traiter forme un écosystème au mécanisme complexe. Tout d'abord, il existe un phénomène d'adsorption des produits colloïdaux à la surface des flocs biologiques de façon similaire à une floculation chimique. De plus, les organismes présents dans la boue ne peuvent dégrader directement la grande majorité des molécules organiques à haut poids moléculaire pour la simple et bonne raison que ces dernières ne peuvent pénétrer au sein des cellules à la surface desquelles elles se sont adsorbées. Des exoenzymes de type hydrolases permettent la digestion de ces macromolécules en catalysant l'hydrolyse de leur substrat (Wang et al., 2009). Les molécules plus petites, sont pour leur part, transformées par le métabolisme intracellulaire. La partie coenzyme A (CoA) des enzymes se lient aux groupements acides carboxyliques des molécules exogènes pour former un complexe CoA-acide qui subis une β-oxydation (Wang et al., 2009). En résulte la formation de deux molécules. La première étant une molécule β-oxydée (cétone) qui, en présence d'une enzyme de transfert et de CoA, pourra subir à nouveau l'étape de β-oxydation. La seconde un complexe acétyl-CoA qui, dégradé dans le cycle de Krebs, sera à l'origine de la production de l'énergie nécessaire au développement de l'organisme (Wang et al., 2009). Les molécules présentant d'autres groupements (alcools, amines, cétones) subissent des transformations orientées vers la conversion en acide carboxylique rendant ainsi possible l'interaction avec CoA (Wang et al., 2009).
Une fois traitée, l'eau épurée est séparée des flocs biologiques dans un clarificateur par décantation simple.

Le traitement tertiaire ou traitement complémentaire apporte une qualité supplémentaire à l'eau traitée. Cela peut passer par l'amélioration de l'efficacité des traitements précédents ou par la mise en place d'actions visant à la réduction d'une pollution spécifique. Le traitement primaire peut être complété par une filtration sur sable par exemple. La biofiltration, le lagunage, ou encore la filtration sur charbon actif peuvent également constituer des étapes de finition d'un traitement sur boue activée (Boeglin, 1999). Le lagunage est une technique naturelle qui consiste en l'écoulement de l'eau à travers plusieurs bassins étanches à l'air libre. L'oxygène apporté à la population bactérienne épuratrice est photosynthétisé par des algues également présentes dans le milieu (Sibony et al., 1993). Le procédé d'élimination de la pollution carbonée en culture libre peut également aussi être modifié afin d'éliminer la pollution azotée. En effet, l'alternance d'un bassin en condition anoxie (très pauvre en oxygène dissout) et d'un bassin en condition aérobie avec un système de recirculation des boues autorise les étapes de nitrification et de dénitrification. Enfin, l'utilisation de composés chlorés, d'ozone ou de rayonnement UV peut permettre de désinfecter les effluents en réduisant la population bactérienne, cette pratique n'est toutefois pas courante en France (Boeglin, 1999; Sibony et al., 1993).

L'élimination des boues d'épuration passe par leur déshydratation suite à l'étape de clarification du traitement secondaire. Elles suivent ensuite trois voies principales : la valorisation agricole par épandage, le recyclage pour la fabrication d'autres boues, et l'incinération (Boeglin, 1999).

ANNEXE 1.3 – Prédiction des rendements d'élimination pour une sélection de composés psychotropes par traitement secondaire sur boues activées

L'estimation proposée ici s'appuis sur une méthodologie proposée par Tahar *et al.* à partir des données du projet AMPERES (Tahar et al., 2012). Celle-ci prend en compte les mécanismes d'adsorption et de biodégradation.

Les phénomènes d'adsorption sont évalués au regard de la lipophilie des molécules. Plusieurs facteurs comme le coefficient de partage eau/octanol K_{ow} et le coefficient de partage apparent D_{ow} ou encore le coefficient de partage eau/solide K_d. Les termes des équations mises en jeu pour déterminer ces coefficients ainsi que les limites de ces derniers ont été détaillés en ANNEXE 1.1. La classification empirique adoptée par AMPERES définie trois catégories de molécules en fonction du log K_{ow} ou si possible du log D_{ow}. Celle pour lesquelles l'adsorption sur les boues est négligeable (log K_{ow}<2), celle pour lesquelles les mécanismes d'adsorption sont considérés comme prépondérants (log K_{ow}>4) et enfin pour la catégorie médiane le rôle de l'adsorption dans l'élimination des composés de la phase dissoute est estimé modéré (Tahar et al., 2012). Sur les 54 molécules représentées en TABLEAU A.1, 16 appartiennent à la première catégorie, 8 à la seconde tandis que 30 composés se situent dans la catégorie intermédiaire.

molécule	pKa*	log K_{ow}*	log D_{ow} à pH7	molécule	pKa	log K_{ow}	log D_{ow} à pH7
acide valproïque	4,8	2,75		lorazépam	1,3 et 11,5	2,39	
alprazolam	2,4	2,12		lormétazépam		2,23	
amitriptyline	9,4	4,92		MDA	9,7	1,64	
amphétamine	9,9	1,76		MDMA	8,7	1,86	0,15
bromazépam	2,9 et 11	2,05		mémantine	10,3	3,28	
buprénorphine	8,5 et 10	4,98		méprobamate		0,7	
carbamazépine	14	2,45		méthadone	8,6	3,93	2,32
citalopram	9,5	3,74		méthamphétamine	9,87	2,07	
clonazépam	1,5 et 10,5	2,41		miansérine	7,1	3,52	3,17
cocaïne	8,6	2,3	0,69	morphine	8,1	0,89	-0,24
codéine	8,2	1,19	-0,037	naproxène	4,15	3,18	
cyamémazine		4,53		nordazépam		2,93	
Δ9-THC	10,6	7,6		norfluoxetine	9,05	2,05	
diazépam	3,4	2,82		oxazépam	1,7 et 11,6	2,24	
diclofenac	4	4,51		oxcarbazépine	15,96	1,11	
donépézil	8,9	3,6	1,69	oxycodone	8,5	0,66	-0,85
doxépine	8	4,29	3,25	paracétamol	9,38	0,46	
doxylamine		2,37		paroxétine	9,9	3,95	
fentanyl	8,4	4,05	2,63	phénobarbital	7,2	1,47	1,06
fluoxétine	9,5	4,05		prazépam	2,7	3,73	
gabapentine	3,7 et 10,7	-1,1		rivastigmine		2,3	
galantamine	8,2	1,16	-0,07	sertraline	8,5	5,29	3,78
héroïne	7,95	1,58	0,58	tétrazépam		3,2	
hydroxyzine	2,1 et 7,1	2,36		tramadol	9,4	3,01	
ibuprofène	4,91	4		venlafaxine	9,4	3,28	
imipramine	9,4	4,8		zolpidem	6,2	3,85	2,99
kétoprofène	4,45	3,12		zopiclone	6,7	1,54	1,06

TABLEAU A.1 – Paramètres physo-chimiques (pKa, log K_{ow}, log D_{ow}) pour une liste de composés candidats à la sélection d'après (Baselt, 2009; Syracuse Research Corporation (SRC)).

Le processus de biodégradation obéit à des phénomènes complexes faisant intervenir une série de réactions enzymatiques (ANNEXE 1.2). La réussite de ces réactions implique donc l'interaction enzyme-substrat. En 2007, Boethling *et al.* ont proposé d'évaluer la biodégradabilité des petites molécules en fonction de leurs groupes fonctionnels (Boethling et al., 2007). Cette méthode associe les fonctions chimiques à la capacité d'activer ou d'inhiber la biodégradation aérobie (TABLEAU A.2). En outre, elle a été utilisée pour caractériser les molécules étudiées par AMPERES (Tahar et al., 2012). Cette démarche a également été appliquée à la liste de 54 psychotropes du TABLEAU A.1. La moitié d'entres eux (24 composés) présentent plus de groupements inhibiteurs qu'activateurs comme la cocaïne, le Δ9-THC, la kétoprofène, la morphine et l'oxazépam par exemple. 14 autres sont dans le cas contraire, parmi ces composés le bromazépam, la doxylamine, la galantamine et la paroxétine peuvent être cités à titre d'illustration. Enfin, 10 molécules possèdent autant de groupes des deux catégories, la carbamazépine, le diazépam et la mémantine notamment en font partie. Cela suggère qu'une partie de des molécules étudiées n'est pas ou peu impactée par l'activité bactérienne et donc une élimination incomplète par cette voie.

Une estimation théorique de l'élimination par adsorption et par biodégradation d'une liste de substances psychotropes par traitement d'épuration sur boue activée aérobie a été obtenue en croisant les données basées sur la lipophilie des molécules et sur le caractère activateur ou inducteur de biodégradation de leur fonction chimique. Le TABLEAU A.3 rassemble l'ensemble des critères relatifs à la propension théorique d'une sélection de composés à être éliminé par adsoprtion ou par biodégradation lors du traitement secondaire sur boues activées.

En l'absence de données expérimentales concernant la majorité de ces substances psychotropes, cette estimation théorique permet d'apporter des informations sur le devenir de ces composés au cours du traitement d'épuration le plus commun en France. Aussi, les conditions pH du traitement auront par exemple une incidence considérable sur les phénomènes d'adsorption. L'arrangement spatial des molécules pèse quant à lui lourdement sur la biodégradabilité la gêne stérique pouvant jouer sur l'accessibilité aux groupements activateurs ou inducteurs.

En outre, le commentaire sur l'élimination globale de tel ou tel composé deviendrait hasardeux lorsque les indicateurs des deux phénomènes mis en jeu sont contradictoires. Cela dit, des tendances peuvent tout de même être dégagées. Le Δ9-THC possède toutes les caractéristiques d'un composé dont l'abattement serait important, un log D_{ow} supérieur à 4 et une structure globale favorisant la biodégradation. Au contraire, avec un profil plutôt polaire et de nombreux groupes inhibiteurs de la biodégradation, le zopiclone ne semblerait pas être dégradé significativement lors du traitement d'épuration. Aussi, tout semble indiquer que les antidépresseurs comme l'amitriptyline, la doxépine, la fluoxétine, l'imipramine, la paroxétine et la sertraline ainsi que les benzodiazépines seraient éliminées en suivant un mécanisme d'adsorption ce qui semble cohérent au vu de leurs propriétés physico-chimiques et structurales. Toutefois, le cadre de cette approche ne permet pas d'estimer l'importance éventuelle de ce phénomène. D'autres molécules comme les opiacés semblent être trop polaires pour pouvoir être éliminées par des mécanismes d'adsorption et un rendement significatif d'élimination indiquerait une élimination par biodégradation prépondérante.

molécule	groupement fonctionnel	
	activateurs	inhibiteurs
acide valproïque	1 acide carboxylique	1 chaîne alkyle ramifiée
alprazolam	1 phényle	1 halogène, 2 hétérocycles
amitriptyline		1 amine tertiaire
amphétamine	1 phényle	1 carbone quaternaire
bromazépam	1 amide	1 halogène, 2 hétérocycles
buprénorphine	1 hydroxyl	polycycle (n=6), 1 chaîne alkyle ramifiée
carbamazépine	1 amide	1 hétérocycle
citalopram		1 halogène, 1 hétérocycle, 1 amine tertiaire
clonazépam		1 nitro, 1 halogène, 1 hétérocycle
cocaïne	1 phényle, 2 esters	1 hétérocycle
codéine	1 hydroxyl	1 polycycle (n=5)
cyamémazine		1 amine tertiaire, 1 hétérocycle
Δ9-THC	1 hydroxyl, 1 chaîne alkyle non ramifiée	1 hétérocycle
diazépam	1 phényle, 1 amide	1 halogène, 1 hétérocyxle
diclofénac	1 acide carboxylique	2 halogènes
donépézil	1 phényle, 1 cétone	1 hétérocycle
doxépine		1 amine tertiaire, 1 hétérocycle
doxylamine	1 phényle	1 amine tertiaire, 1 hétérocycle, 1 ether
fentanyl	2 phényles, 1 amide	1 hétérocycle
fluoxétine	1 phényle	3 halogènes
gabapentine	1 acide carboxylique	
galantamine	1 hydroxyl	2 hétérocycles
héroïne	2 esters	1 polycycle (n=5)
hydroxyzine	1 phényl, 1hydroxy	1 éther, 1 hétérocycle, 1 halogène
ibuprofène	1 acide carboxylique	1 chaîne alkyle ramifiée
imipramine		1 amine tertiaire, 1 hétérocycle
kétoprofène	1 cétone, 1 phényle, 1 acide carboxylique	
lorazépam	1 amide, 1 hydroxyl	2 halogènes, 1 hétérocycle
lormétazépam	1 amide, 1 hydroxyl	2 halogènes, 1 hétérocycle
MDA	1 phényle	1 hétérocycle
MDMA	1 phényle	1 hétérocycle
mémantine		
méprobamate	2 esters, 1 alkyle non ramifiée	
méthadone	2 phényles, 1 cétone	1 amine tertiaire
méthamphétamine	1 phényle	1 carbone quaternaire
miansérine		1 polycycle (n=4), 1 hétérocycle
morphine	2 hydroxyl	1 polycycle (n=5)
naproxène	1 acide carboxylique	
nordazépam	1 amide, 1 phényle	1 halogène, 1 hétérocycle
norfluoxetine	1 phényle	3 halogènes
oxazépam	1 phényle, 1 amide, 1 hydroxyl	1 halogène, 1 hétérocycle
oxcarbazépine	1 cétone, 1 amide	1 hétérocycle
oxycodone	1 cétone, 1 hydroxyl	1 polycycle (n=5)
paracétamol	1 acide carboxylique, 1 hydroxyl	
paroxétine		2 hétérocycles, 1 halogène
phénobarbital	3 cétones, 1 phényle	1 hétérocycle
prazépam	1 amide, 1 phényle	1 halogène, 1 hétérocycle
rivastigmine	1 amide, 1 ester	1 amine tertiaire
sertraline		2 halogènes
tétrazépam	1 amide	1 hétérocycle, 1 halogène
tramadol	1 hydroxyl	1 amine tertiaire
venlafaxine	1 hydroxyl	1 amine tertiaire
zolpidem	1 amide	2 hétérocycles
zopiclone	1 cétone, 1 ester	4 hétérocycles, 1 halogène

TABLEAU A.2 – Groupements activateurs et inhibiteurs de la biodégradation aérobie pour une liste de composés psychotropes, d'AINS et l'acétaminophène.

molécule	élimination par adsorption	élimination par bio-dégradation
ac. valproïque		
alprazolam		
amitriptyline		
amphétamine		
bromazépam		
buprénorphine		
carbamazépine		
citalopram		
clonazépam		
cocaïne		
codéine		
cymémazine		
Δ9-THC		
diazépam		
diclofénac		
donépézil		
doxépine		
doxylamine		
fentanyl		
fluoxétine		
gabapentine		
galantamine		
héroïne		
hydroxyzine		
ibuprofène		
imipramine		
kétoprofène		

molécule	élimination par adsorption	élimination par bio-dégradation
lorazépam		
lormétazépam		
MDA		
MDMA		
mémantine		
méprobamate		
méthadone		
méthamphétamine		
miansérine		
morphine		
naproxène		
nordazépam		
norfluoxétine		
oxazépam		
oxcarbazépine		
oxycodone		
paracétamol		
paroxétine		
phénobarbital		
prazépam		
rivastigmine		
sertraline		
tétrazépam		
tramadol		
venlafaxine		
zolpidem		
zopiclone		

légende :

adsorption	log D_{ow} >4	importante
	2<log D_{ow} <4	modérée
	log D_{ow} <2	négligeable

bio-dégradation	gpe ACT>INH	favorable
	gpe ACT=INH	neutre
	gpe ACT<INH	défavorable

TABLEAU A.3 – Estimation théorique de l'élimination par adsorption et biodégradation d'une liste de psychotropes par traitement d'épuration sur boues activées aérobies.

ANNEXE 2.1 – Techniques de préparation d'échantillons environnementaux utilisées dans la littérature

phase extractrice (marque)	(réf.)
HLB (Waters®)	(Al Aukidy et al., 2012; Bijlsma et al., 2012; Boleda et al., 2007, 2009; Bueno et al., 2012; Gheorghe et al., 2008; Gómez et al., 2006; Grabic et al., 2012; Gracia-Lor et al., 2012; Gros et al., 2009, 2012, 2006; Hao et al., 2008; Huerta-Fontela et al., 2007, 2008a, 2008b, 2010, 2011; Hummel et al., 2006; Ibáñez et al., 2013; Karolak et al., 2010; Kolpin et al., 2002; Kosjek et al., 2012; Loos et al., 2013; MacLeod et al., 2007a; Nefau et al., 2013; van Nuijs et al., 2010, 2009a; Petrović et al., 2014; Schultz et al., 2008, 2010; Vanderford et al., 2006; Wick et al., 2009; Writer et al., 2013)
MCX (Waters®)	(Baker et al., 2011a, 2013; Castiglioni et al., 2005, 2006b; Chu et al., 2007; González-Mariño et al., 2009; Kasprzyk-Hordern et al., 2007, 2008a, 2008b; Lindqvist et al., 2005; Löffler et al., 2005; van Nuijs et al., 2009b; Togola et al., 2008a; Vieno et al., 2005; Zuccato et al., 2008)
Strata SCX (Phénomenex®)	(Lajeunesse et al., 2008, 2012)
Strata XC (Phénomenex®)	(Bisceglia et al., 2010)
Strata X (Phénomenex®)	(Idder et al., 2013)
PLRP-s (Spark®)	(Postigo et al., 2008; Valcárcel et al., 2012)
ENVI-18 (Supelco®)	(Tauxe-Wuersch et al., 2005)
RP-C18 (Phenomenec®)	(Bendz et al., 2005)
Polar Plus C18 (Baker®)	(Koutsouba et al., 2003)
RP-C8 (non communiqué)	(Heberer et al., 2005)
Supelclean LC-18 (Supelco®)	(Metcalfe et al., 2003)
Isolute C18 (Biotage®)	(Bendz et al., 2005; Ternes et al., 2001)
Hypersil Gold C18 (Thermo Fisher®)	(Idder et al., 2013)
Poursuit C18 (Agilent®)	(Repice et al., 2013)
Bond Elut ENV (Agilent®)	(Vasskog et al., 2006)

ANNEXE 2.2 – Phases stationnaires utilisées dans la littérature pour la séparation en chromatographie liquide de certains composés sélectionnés

colonne (marque)	(réf.)
Ace 3 C18 (ACT®)	(Vasskog et al., 2006)
Acquity BEH C18 (Waters®)	(Baker et al., 2011a, 2013; Boleda et al., 2007, 2009; Gracia-Lor et al., 2012; Gros et al., 2012; Huerta-Fontela et al., 2011, 2007, 2008a, 2008b, 2010; Kasprzyk-Hordern et al., 2007, 2008a, 2008b; Petrović et al., 2014)
Acquity HSS T3(Waters®)	(Gracia-Lor et al., 2012; Gros et al., 2012; Ibáñez et al., 2013; Petrović et al., 2014)
Chirobiotic V (ACT®)	(MacLeod et al., 2007a)
Eclipse XDB-Phenyl (Agilent®)	(Schultz et al., 2008, 2010)
Gemini C18 (Phenomenex®)	(Lajeunesse et al., 2008; Vasskog et al., 2006)
Halo C18 (Advanced Materials Tech.®)	(González-Mariño et al., 2009)
Hydro RP (Phenomenex®)	(Berset et al., 2010)
Hypersil GOLD C18 (Thermo®)	(Hao et al., 2008; Idder et al., 2013)
Hypersil GOLD aQ (Thermo®)	(Grabic et al., 2012; Loos et al., 2013)
LiChrospher RP-18 (Merck®)	(Löffler et al., 2005; Ternes et al., 2001)
Luna HILIC (Phénomenex®)	(van Nuijs et al., 2010, 2009b)
Metasil Basic C8 (Metachem Tech. ®)	(Kolpin et al., 2002)
Purospher Star RP18 (Merck®)	(Al Aukidy et al., 2012; Gros et al., 2009, 2010; Postigo et al., 2008, 2010; Valcárcel et al., 2012)
Synergi Polar RP (Phenomenex®)	(Hummel et al., 2006; Wick et al., 2009)
Ultra IBD (Restek®)	(Bisceglia et al., 2010)
Viva PFPP (Restek®)	(Bisceglia et al., 2010)
XBridge C18 (Waters®)	(Bijlsma et al., 2012; Vasskog et al., 2008)
Xbridge Phenyl (Waters®)	(Karolak et al., 2010; Nefau et al., 2013)
Xterra MS C18 (Waters®)	(Castiglioni et al., 2005, 2006b; Zuccato et al., 2008)
Zorbax Extend-C18(Agilent®)	(Lindqvist et al., 2005; Vieno et al., 2005)
Zorbax SB-C18(Agilent®)	(Bueno et al., 2012)
Zorbax Rx-SIL-HILIC (Agilent®)	(Gheorghe et al., 2008; van Nuijs et al., 2009a)

ANNEXE 2.3 – Types d'analyseurs de masses utilisés dans la littérature pour la caractérisation de certains composés sélectionnés

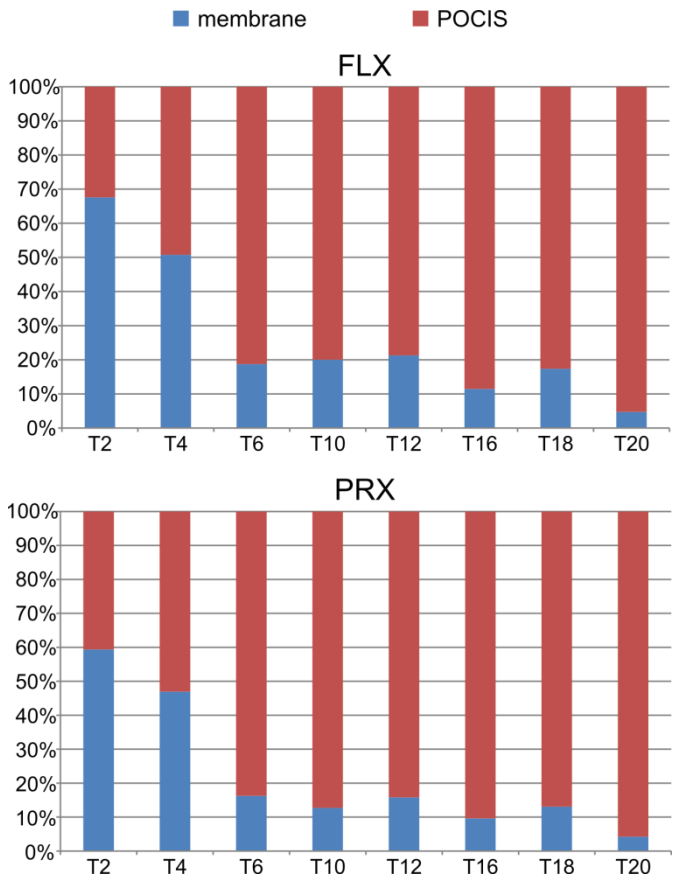
séparation	source	analyseur	mode	(réf.)
GC	EI	MS (Q)	SIM	(Heberer et al., 2005; Kosjek et al., 2012; Metcalfe et al., 2003; Tauxe-Wuersch et al., 2005; Togola et al., 2008a)
GC	EI	MS (Q)	Scan	(Bendz et al., 2005; Togola et al., 2008a)
GC	EI	MS (IT)	SIM	(Koutsouba et al., 2003)
LC	ESI	MS (Q)	SIM	(Kolpin et al., 2002)
LC	APCI	MS-MS(tQ)	MRM	(Löffler et al., 2005)
LC	ESI	MS-MS(tQ)	MRM	(Baker et al., 2011a, 2013; Bendz et al., 2005; Berset et al., 2010; Bisceglia et al., 2010; Boleda et al., 2007, 2009; Castiglioni et al., 2005, 2006b; Gómez et al., 2006; González-Mariño et al., 2009; Grabic et al., 2012; Gracia-Lor et al., 2012; Gros et al., 2006; Huerta-Fontela et al., 2007, 2008a, 2008b; Hummel et al., 2006; Ibáñez et al., 2013; Idder et al., 2013; Karolak et al., 2010; Kasprzyk-Hordern et al., 2007, 2008a, 2008b; Lajeunesse et al., 2008, 2012; Lindqvist et al., 2005; MacLeod et al., 2007a; Metcalfe et al., 2003; Nefau et al., 2013; van Nuijs et al., 2010, 2009b; Repice et al., 2013; Schultz et al., 2008, 2010; Ternes et al., 2001; Vanderford et al., 2006; Vasskog et al., 2006, 2008; Vieno et al., 2005; Wick et al., 2009; Zuccato et al., 2008)
LC	APCI	MS-MS(tQ-IT)	MRM	(Chu et al., 2007)
LC	ESI	MS-MS(tQ-IT)	MRM	(Al Aukidy et al., 2012; Bijlsma et al., 2012; Bueno et al., 2012; Gheorghe et al., 2008; Gros et al., 2009, 2010, 2012; Hao et al., 2008; Huerta-Fontela et al., 2010, 2011; van Nuijs et al., 2009a; Petrović et al., 2014)

ANNEXE 3.1 – Techniques d'échantillonnage actif utilisées pour les analyses environnementales

eaux de surface	eaux d'épuration	référence
ponctuel		(Berset et al., 2010; Boleda et al., 2009; Gros et al., 2012; Hao et al., 2008; Kasprzyk-Hordern et al., 2007, 2008a, 2008b; Klosterhaus et al., 2013; Kolpin et al., 2002; Löffler et al., 2005; Schultz et al., 2010; Togola et al., 2008a; Valcárcel et al., 2012)
automatique (temps/2h)		(Zuccato et al., 2008)
ponctuel	ponctuel	(Baker et al., 2011a, 2013; Gros et al., 2006, 2009; Huerta-Fontela et al., 2008b; Hummel et al., 2006; Schultz et al., 2008; Vanderford et al., 2006)
ponctuel	automatique (temps/24h)	(Berset et al., 2010; Boleda et al., 2007; Gheorghe et al., 2008; Gros et al., 2010, 2012; Huerta-Fontela et al., 2007; Kosjek et al., 2012; Lajeunesse et al., 2008; Lindqvist et al., 2005; Postigo et al., 2010; Stumpf et al., 1999; Vasskog et al., 2008; Vieno et al., 2005)
ponctuel	automatique (débit/24h)	(Al Aukidy et al., 2012; Bendz et al., 2005; Bisceglia et al., 2010; Karolak et al., 2010; van Nuijs et al., 2009a; Ternes et al., 2001)
	ponctuel	(Gómez et al., 2006; Ibáñez et al., 2013; Koutsouba et al., 2003; Loos et al., 2013; MacLeod et al., 2007a; Writer et al., 2013)
	automatique (temps/24h*)	(Bueno et al., 2012; Castiglioni et al., 2006b; Gracia-Lor et al., 2012; Heberer et al., 2005; Huerta-Fontela et al., 2008a, 2010; Metcalfe et al., 2003; Postigo et al., 2008; Repice et al., 2013; Tauxe-Wuersch et al., 2005; Wick et al., 2009)
	pontuel et automatique (temps/24h)	(Loos et al., 2013; Vasskog et al., 2006)
	automatique (volume/ 24h)	(Lajeunesse et al., 2012; van Nuijs et al., 2010, 2009b)
	automatique (débit/24h)	(Bijlsma et al., 2012; Grabic et al., 2012; Nefau et al., 2013)

*(Wick et al., 2009) : dans cette étude des prélèvements sur des période de 48 et 72 h ont également été effectué.

ANNEXE 3.2 – Distribution des quantités mesurées entre les membranes et les échantillonneurs pour les analytes présentant un « lag time **»**



ANNEXE 4.1 – Etude de la contamination d'effluents de STEP

Résultats STEP1

	08/03/2012	09/03/2012	10/03/2012	07/06/2012	08/06/2012	09/06/2012	07/09/2012	08/09/2012	09/09/2012	05/12/2012	06/12/2012	07/12/2012	05/12/2012*	06/12/2012*	07/12/2012*
	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)
Anti-épileptiques															
CBZ	410,9	437,3	422,0	703,5	701,6	405,8	970,1	1070,7	1121,6	476,9	315,1	389,6	387,9	302,5	355,9
GBP	4026,8	3994,6	3978,3	3975,8	3575,7	1613,6	3778,2	6696,0	4849,3	2789,4	1797,3	2729,7	1625,1	1694,1	2416,2
HCBZ	1232,0	1384,7	1231,0	1998,6	2191,8	942,2	2147,9	2275,9	2496,8	930,3	774,7	1008,8	599,1	674,6	848,6
OCBZ	ND	ND	ND	381,7	329,9	136,8	268,6	277,7	201,7	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Substances Illicites															
BZL	286,4	296,9	245,2	473,6	487,4	171,9	379,0	569,6	642,0	363,9	166,9	167,9	283,8	189,9	202,0
COC	38,2	30,2	35,5	48,4	42,3	36,0	62,7	9,9	5,0	23,7	22,8	23,8	50,5	45,9	21,0
COCE	1,6	1,2	1,5	1,7	1,9	0,6	1,4	0,9	0,6	3,1	1,5	0,9	3,2	0,9	0,7
mCPP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MDA	6,0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	10,1	4,1	2,2	9,1	1,9	0,0
MDMA	38,5	33,7	24,1	8,0	13,3	2,2	72,1	81,2	68,9	60,5	21,9	15,5	66,4	18,5	18,9
MPD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0	0,0	0,0
Benzodiazépines															
3-HBMZ	78,1	80,4	81,9	114,5	93,8	33,8	103,3	140,3	136,2	52,4	28,9	48,7	26,3	37,6	54,5
ALP	3,5	3,7	3,1	3,2	3,3	2,0	2,9	3,2	3,1	1,8	1,3	2,5	1,3	1,8	1,7
BMZ	11,7	13,1	10,9	15,2	15,8	7,8	17,4	17,8	12,6	6,1	4,0	6,8	3,9	8,7	7,5
CLZ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CZP-NDZ	21,6	20,1	22,0	34,7	33,8	12,1	24,2	26,7	25,2	15,8	9,5	13,2	10,3	7,6	13,1
DZP	2,6	2,5	2,7	2,9	2,9	2,1	2,3	2,2	2,5	1,9	1,2	2,5	1,4	1,7	2,0
LMZ	9,2	8,4	7,0	19,2	16,9	6,9	12,9	17,3	17,0	9,2	5,2	7,1	6,7	6,0	7,6
LRZ	36,4	24,7	30,6	52,1	51,9	20,0	55,5	50,0	45,7	35,0	17,7	29,2	20,0	15,1	26,1
OXA	1112,8	1042,7	1079,7	1645,3	1602,4	681,4	1433,2	1667,6	1737,3	968,8	648,8	880,2	584,0	508,5	755,0
OXA-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6,4	6,4
PZP	14,9	13,7	15,7	65,6	63,6	17,0	21,8	15,6	18,6	37,4	14,9	18,5	17,9	13,7	17,2

TTZ	23,0	18,0	21,4	55,2	36,3	16,5	32,5	25,4	12,3	18,0	19,8	22,4	16,3	17,9	36,2
ZLP	7,6	6,3	7,0	9,3	9,3	5,2	8,8	9,1	11,0	7,0	4,0	5,5	3,4	3,5	6,5
ZLP-4A	245,7	306,8	270,5	379,3	438,6	207,0	303,4	295,9	300,8	203,1	123,9	200,1	97,3	101,0	203,9
ZLP-6A	18,8	16,7	18,0	19,6	19,5	13,1	21,9	16,2	23,8	16,3	6,2	20,2	5,4	5,0	7,2
ZOP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ZOP-N-ox.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer															
DNP	1,6	2,1	2,1	2,2	1,4	ND	1,7	2,1	1,3	2,1	2,1	1,9	1,5	1,8	2,1
GLT	18,0	17,4	18,8	13,3	10,3	3,5	10,7	17,8	14,6	8,9	4,9	6,6	5,4	6,0	7,2
MMT	48,1	45,2	45,2	115,5	100,1	39,1	107,6	128,2	124,9	59,8	40,1	59,5	33,4	41,6	70,0
RVS	8,3	5,6	6,8	7,3	6,4	4,9	10,8	10,7	11,8	6,9	2,3	6,5	4,8	5,4	10,6
Antidépresseurs ISRS															
CIT	360,4	551,8	819,4	1204,8	1402,4	1173,2	544,7	322,9	378,6	387,3	304,4	370,3	289,4	258,6	465,0
DCIT	165,1	45,6	153,9	272,0	377,7	76,2	116,6	102,4	98,7	143,4	112,8	124,3	76,9	98,1	117,1
FLX	11,7	ND	ND	ND	ND	ND	10,0	ND	ND	ND	10,8	4,2	ND	ND	ND
MPRX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NFLX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PRX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SER	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8,0	1,5	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides															
BUP	ND	ND	ND	15,3	11,2	ND	7,5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BUP-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
COD	1017,0	1086,4	1144,6	1091,1	1103,4	478,4	1060,6	1217,8	1179,1	812,5	615,1	801,9	637,2	572,9	734,2
COD-glu	ND	2,2	2,0	ND	ND	2,6	1,7	4,2	2,3	5,5	13,1	6,3	11,3	37,9	28,9
EDDP	45,8	42,4	54,5	81,1	89,0	31,8	45,1	38,6	37,3	26,7	34,5	22,2	12,4	8,3	16,8
M3G	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M6G	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MPH	114,5	82,0	46,8	153,3	148,5	35,6	87,0	20,4	16,7	ND	10,9	ND	ND	5,0	22,0
MTD	27,8	24,7	25,6	41,5	36,0	15,9	26,4	31,3	24,7	25,8	17,3	14,8	22,2	19,7	21,9
NCOD	91,4	90,3	100,8	113,0	128,4	38,5	108,8	150,7	131,3	88,7	53,0	74,4	58,6	51,0	70,6
OXY	ND	ND	ND	7,2	10,5	5,4	ND	ND	5,4	5,6	3,8	2,9	4,0	4,6	3,2
TMD	698,1	742,7	747,3	958,7	1000,8	416,0	848,4	908,1	968,0	661,6	484,9	592,3	496,8	449,2	568,5
Autres antidépresseurs															
DVLF	756,9	918,0	868,8	638,4	703,1	282,2	501,8	558,6	557,6	418,5	295,5	398,6	276,7	234,4	339,8
DVLF-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6,5	24,4	21,5
MSR	10,5	8,3	10,5	35,6	27,5	9,8	ND	ND	ND	14,9	13,9	15,6	9,2	10,5	12,2
TNP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

VLF	373,5	381,4	380,7	736,7	706,9	292,1	616,6	666,1	738,2	458,2	318,2	402,5	308,3	351,3	438,7
Autre psycholeptique															
MPB	983,3	886,0	946,2	2091,1	1881,7	622,8	1722,1	1796,8	2031,2	692,8	550,5	638,0	388,6	384,6	557,0
Autres médicaments de consommation courante															
CIBU	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DCF	411,8	319,7	392,6	482,2	508,0	238,0	364,7	359,6	283,7	180,9	145,2	199,8	136,8	182,5	318,5
HIBU	1371,3	1571,9	1390,7	2118,9	2923,6	918,1	1069,2	1113,9	1409,7	1205,4	743,1	1937,4	1035,8	1390,3	2035,9
IBU	412,3	440,8	409,5	736,2	536,8	171,4	265,2	328,3	243,1	296,6	63,7	535,0	390,6	702,7	1215,3
IBU-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
KTP	849,4	959,3	933,5	1081,9	652,0	577,4	1632,4	1564,0	1732,3	734,9	297,3	1059,8	1003,7	1118,6	1698,7
KTP-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NPX	1333,0	1585,0	1553,2	1928,0	1673,3	800,5	1937,5	2218,0	2264,9	1545,7	631,1	1587,0	879,5	921,0	1463,1
NPX-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PAR	ND	67,4	68,2	54,9	15,2	7,0	258,5	946,0	61,0	37,8	100,4	16,2	7,5	34,7	260,1
PAR-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

* : au mois de décembre une seconde filière de traitement (biofiltres) a été mise en service en parallèle de la première

TABLEAU A.4 – Concentrations mesurées dans les eaux traitées de la STEP 1

Résultats STEP2

	05/12/2012	06/12/2012	07/12/2012	06/06/2012	07/06/2012	08/06/2012	08/03/2012	09/03/2012	10/03/2012	06/09/2012	07/09/2012	08/09/2012
	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)
Anti-épileptiques												
CBZ	220,7	178,7	188,1	611,4	505,8	445,1	290,9	180,1	313,5	700,7	443,4	659,2
GBP	1522,9	1402,6	1340,1	3945,9	3983,9	2223,8	3262,8	1326,2	3227,9	4018,5	2827,0	4899,6
HCBZ	519,7	499,0	523,3	2102,6	1608,5	1388,3	945,0	449,8	1046,6	1802,3	1281,4	1925,0
OCBZ	ND	ND	ND	323,7	249,0	235,0	ND	ND	ND	303,3	182,7	322,4
Substances Illicites												
BZL	230,1	141,2	110,3	783,5	483,2	318,7	294,4	131,5	228,7	362,9	141,2	298,3
COC	22,7	14,3	26,8	45,4	23,3	34,4	43,4	0,9	27,4	38,4	20,3	32,9
COCE	1,8	0,9	0,8	3,4	1,5	1,6	2,7	0,3	1,3	1,2	0,6	0,9
mCPP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MDA	20,1	8,7	4,8	7,5	5,5	ND	ND	ND	ND	5,7	4,5	4,1
MDMA	24,7	15,0	8,0	16,6	11,9	7,2	28,8	12,2	19,2	110,0	46,7	59,9
MPD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzodiazépines												
3-HBMZ	27,7	17,3	20,4	114,5	84,8	58,5	62,9	30,6	61,1	105,6	62,0	111,3
ALP	1,5	0,5	1,3	3,2	3,8	2,2	2,6	1,6	ND	2,5	1,3	2,1
BMZ	3,7	4,6	4,0	11,6	12,1	9,7	9,0	6,1	10,0	10,1	5,3	9,8
CLZ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CZP-NDZ	11,4	10,4	8,3	28,7	20,9	20,3	17,8	15,7	18,0	22,3	18,0	27,3
DZP	1,7	1,6	1,0	3,5	4,2	3,8	2,6	2,9	2,7	2,3	1,3	3,0
LMZ	8,7	6,3	0,3	22,0	18,6	14,9	8,6	5,6	9,1	14,8	8,8	14,8
LRZ	16,8	16,2	14,3	57,1	47,1	37,0	25,2	20,1	26,7	50,5	27,6	48,9
OXA	534,1	451,6	435,3	1545,7	1276,7	1097,8	899,7	610,1	952,0	1300,5	920,0	1377,7
OXA-glu	ND	ND	ND	1,8	4,1	2,9	ND	ND	ND	2,6	ND	2,7
PZP	8,1	7,5	7,3	30,1	28,0	18,1	10,5	6,3	9,1	42,9	28,6	33,0
TTZ	20,2	20,3	18,2	57,1	67,7	42,7	36,7	18,8	28,5	18,2	17,5	29,1
ZLP	3,0	2,7	3,7	12,3	11,6	7,8	5,3	3,6	6,8	10,7	5,8	8,3
ZLP-4A	117,8	105,6	119,8	419,8	315,3	234,8	193,7	116,6	195,8	324,0	194,0	288,1
ZLP-6A	3,4	8,9	10,2	13,3	16,3	11,1	9,4	6,0	13,4	11,6	14,7	18,5

ZOP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ZOP-N-ox.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer												
DNP	1,0	1,0	0,9	2,3	1,7	1,9	2,4	1,8	2,1	1,5	1,1	1,1
GLT	5,9	6,3	5,2	23,1	19,2	18,3	20,1	14,6	20,4	29,8	14,0	23,7
MMT	35,2	33,6	33,1	124,6	104,1	93,4	43,5	28,5	60,0	112,7	62,6	113,8
RVS	5,5	5,3	5,5	5,3	6,7	4,5	3,1	2,5	2,9	9,2	4,6	6,6
Antidépresseurs ISRS												
CIT	281,5	247,5	251,1	554,9	592,0	538,5	214,8	129,3	158,7	393,9	185,2	214,4
DCIT	71,5	77,1	61,2	613,3	783,6	41,9	186,9	56,3	179,6	41,0	122,7	151,9
FLX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12,3	ND	ND	ND	ND	ND
MPRX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NFLX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PRX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SER	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides												
BUP	ND	ND	ND	13,2	5,8	8,0	9,4	4,3	5,7	13,2	4,7	7,5
BUP-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
COD	369,9	328,7	338,1	940,8	732,8	615,3	621,6	482,3	721,7	779,4	499,0	750,7
COD-glu	6,1	18,4	15,7	17,1	34,0	22,5	3,9	ND	13,8	26,9	8,2	16,1
EDDP	14,4	14,6	11,8	63,2	46,9	45,2	39,4	15,8	43,4	51,8	25,8	38,8
M3G	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M6G	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MPH	14,3	18,7	5,4	386,5	276,0	250,2	220,7	133,8	216,4	300,6	219,9	328,6
MTD	15,3	12,7	11,9	44,0	37,7	34,8	21,7	13,7	21,1	37,6	21,6	32,1
NCOD	39,8	27,5	33,2	171,4	136,0	84,5	75,6	54,5	87,4	65,9	65,1	118,2
OXY	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TMD	356,5	312,3	327,9	846,0	764,3	626,4	529,7	315,6	528,3	975,9	635,1	955,0
Autres antidépresseurs												
DVLF	229,0	188,9	190,6	569,5	496,5	410,2	650,7	408,4	709,2	479,9	352,9	510,8
DVLF-glu	ND	ND	ND	13,4	21,2	ND	ND	ND	ND	12,6	5,9	10,2
MSR	8,7	4,1	5,7	21,0	30,1	29,9	7,4	4,6	7,9	ND	ND	ND
TNP	ND	ND	ND	6,1	10,6	10,0	2,5	1,3	2,9	<LOQ	ND	<LOQ
VLF	238,9	214,6	197,9	661,3	712,3	543,9	334,2	210,4	340,2	574,1	355,2	528,8
Autre psycholeptique												
MPB	259,4	328,4	333,1	1674,8	1596,9	1022,2	529,9	228,2	564,7	1774,5	919,8	1780,4
Autres médicaments de consommation courante												

CIBU	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DCF	238,1	240,2	161,7	454,3	442,8	410,7	391,3	293,4	383,0	462,1	377,1	456,0
HIBU	363,3	435,1	394,9	2269,7	1559,8	1407,9	1712,5	830,4	1326,6	2436,1	2262,4	2324,1
IBU	157,8	177,8	196,7	1109,1	756,1	628,3	899,2	366,5	690,1	1052,5	576,1	1004,7
IBU-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
KTP	544,0	484,2	463,9	1298,4	1089,5	800,9	1415,5	513,3	1332,7	1547,6	896,9	1537,7
KTP-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NPX	454,4	484,7	493,4	1663,3	1641,1	1039,1	1045,7	570,8	1192,9	1721,9	906,9	1468,4
NPX-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PAR	12,1	29,3	12,7	37,0	101,1	25,5	37,4	20,0	82,7	1192,9	1166,2	32,9
PAR-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

TABLEAU A.5 – Concentrations mesurées dans les eaux traitées de la STEP 2

Résultats STEP 3 et 4

	STEP3			STEP4				
	mars-11	mars-12	avr.-12	avr.-12	sept.-12	juil.-12	mai-12	mars-12
	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)
Anti-épileptiques								
CBZ	626,2	635,5	651,9	698,6	652,6	977,7	922,3	741,3
GBP	6921,3	12412,7	7194,1	10290,2	7651,2	7974,5	9068,7	8293,3
HCBZ	1572,7	1844,5	2294,9	2109,8	2198,4	1975,3	2312,7	1790,1
OCBZ	21,6	58,7	36,9	ND	ND	ND	ND	ND
Substances Illicites								
BZL	5,5	40,0	31,0	165,4	104,7	137,0	56,6	121,1
COC	0,4	2,9	1,6	27,8	16,8	14,7	11,0	36,7
COCE	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
mCPP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MDA	ND	ND	ND	7,1	ND	ND	ND	7,6
MDMA	ND	7,7	4,4	84,8	13,7	16,0	16,3	44,8
MPD	1,6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzodiazépines								
3-HBMZ	118,3	140,8	121,5	163,9	195,9	151,0	144,8	142,2
ALP	6,8	11,3	9,4	7,6	12,1	7,8	8,7	6,0
BMZ	14,9	16,0	14,8	22,4	36,1	16,5	15,2	17,7
CLZ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CZP-NDZ	57,0	77,6	71,9	72,5	57,8	70,0	64,8	55,0
DZP	3,3	4,7	3,6	11,6	5,5	5,4	5,5	3,5
LMZ	50,4	86,8	74,5	60,0	36,4	29,7	47,8	50,0
LRZ	99,8	152,9	129,9	131,0	137,3	126,2	135,2	126,5
OXA	1655,4	2095,2	1903,4	2225,1	2124,9	2057,1	1971,0	1996,7
OXA-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PZP	45,7	94,2	47,9	55,3	78,4	72,9	76,5	55,9
TTZ	27,0	37,3	29,8	34,4	24,1	19,5	28,2	21,6
ZLP	7,5	9,2	7,9	11,8	21,4	17,6	12,6	9,2
ZLP-4A	476,7	541,8	458,7	482,1	528,3	454,3	490,2	401,1
ZLP-6A	39,0	51,3	35,0	29,7	38,7	36,0	34,4	25,5
ZOP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ZOP-N-ox.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer								
DNP	2,0	1,2	0,4	1,1	3,4	1,2	0,5	1,3
GLT	15,3	44,0	5,6	19,1	17,5	10,5	16,4	17,3
MMT	181,9	182,8	75,2	186,1	220,3	208,5	257,3	163,1
RVS	15,4	11,2	6,1	14,5	72,2	27,4	24,3	26,3
Antidépresseurs ISRS								
CIT	609,8	727,7	540,4	476,0	2412,8	827,2	448,2	682,9
DCIT	549,5	670,5	379,5	148,3	517,7	341,6	322,4	365,0
FLX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MPRX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NFLX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PRX	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SER	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides								
BUP	ND	9,6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BUP-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
COD	186,5	1265,4	565,7	933,2	660,1	444,3	589,9	927,9
COD-glu	ND	ND	ND	6,2	ND	ND	ND	9,1
EDDP	69,8	42,4	67,9	107,1	205,7	132,1	95,2	101,2
M3G	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M6G	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MPH	31,2	524,2	46,1	229,6	24,2	21,3	141,8	214,0

MTD	31,9	16,8	36,4	47,7	104,7	67,4	48,8	46,5
NCOD	27,2	284,1	95,0	95,3	55,8	54,5	78,3	120,8
OXY	14,4	8,8	17,8	11,2	13,5	12,0	12,6	11,2
TMD	1157,3	1388,3	1393,8	1073,5	1470,5	1280,4	1146,1	1038,5
Autres antidépresseurs								
DVLF	1092,6	1380,2	1135,3	870,7	903,7	848,1	868,9	799,0
DVLF-glu	ND	ND	ND	11,3	ND	ND	ND	ND
MSR	25,2	135,0	65,1	64,8	20,6	32,0	34,7	41,6
TNP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VLF	1053,7	1301,1	1099,8	1221,2	1559,7	1197,3	1156,5	1091,0
Autre psycholeptique								
MPB	230,3	227,4	108,6	377,3	1718,8	1426,0	2028,4	307,2
Autres médicaments de consommation courante								
CIBU	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DCF	429,5	531,8	514,2	544,1	389,0	385,8	450,5	533,2
HIBU	206,6	2849,4	221,9	1373,4	1358,3	756,1	890,3	1133,7
IBU	65,3	255,8	50,3	938,1	363,1	337,3	477,9	743,7
IBU-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
KTP	210,5	701,9	148,6	1188,2	872,4	968,4	1082,6	1043,1
KTP-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NPX	175,5	633,9	168,9	1048,6	521,2	585,3	920,0	1079,4
NPX-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PAR	ND	41,4	7,6	1087,6	21,3	18,9	294,1	408,3
PAR-glu	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

TABLEAU A.6 – Concentrations mesurées dans les eaux traitées des STEP 3 et 4

Résultats STEP 5 et 6

	STEP5	STEP6		
	nov.-11	mai-11	août-11	nov.-11
	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)	C (ng/L)
Anti-épileptiques				
CBZ	772,59	691,2	446,8	670,3
GBP	3198,36	5179,4	5927,7	7984,8
HCBZ	1671,23	1471,1	1142,0	1467,7
OCBZ	113,58	20,7	12,7	57,5
Substances Illicites				
BZL	18,71	10,7	14,5	21,6
COC	0,72	0,6	1,7	3,9
COCE	ND	ND	ND	ND
mCPP	ND	ND	ND	ND
MDA	ND	ND	ND	ND
MDMA	5,56	ND	ND	ND
MPD	ND	ND	ND	ND
Benzodiazépines				
3-HBMZ	76,43	114,7	87,3	130,4
ALP	5,96	9,8	11,8	8,8
BMZ	11,55	11,7	9,1	14,1
CLZ	ND	ND	ND	ND
CZP-NDZ	34,82	44,2	36,6	39,6
DZP	3,41	4,1	1,7	7,5
LMZ	47,18	44,1	38,6	61,3
LRZ	73,65	91,8	79,2	110,0
OXA	2840,94	3731,6	2915,6	4305,5
OXA-glu	ND	ND	ND	ND
PZP	21,00	76,5	46,2	67,2
TTZ	43,87	56,5	56,3	142,2
ZLP	7,57	6,7	9,4	10,7
ZLP-4A	446,98	363,0	320,0	473,4
ZLP-6A	39,12	28,9	28,2	37,9
ZOP	ND	ND	ND	ND
ZOP-N-ox.	ND	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer				
DNP	1,26	1,1	0,8	0,9
GLT	ND	ND	ND	ND
MMT	124,31	162,4	136,5	171,2
RVS	8,64	6,7	8,2	7,6
Antidépresseurs ISRS				
CIT	285,39	191,3	203,8	281,1
DCIT	267,17	159,4	146,1	280,9
FLX	ND	ND	ND	ND
MPRX	ND	ND	ND	ND
NFLX	ND	ND	ND	ND
PRX	ND	ND	ND	ND
SER	ND	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides				
BUP	5,41	ND	ND	ND
BUP-glu	ND	ND	ND	ND
COD	44,42	23,1	54,8	115,9
COD-glu	ND	ND	ND	ND
EDDP	109,23	104,4	65,7	110,2
M3G	ND	ND	ND	ND

M6G	ND	ND	ND	ND
MPH	4,00	ND	11,6	17,8
MTD	55,33	39,2	41,2	54,4
NCOD	8,57	ND	ND	14,9
OXY	14,20	26,0	24,9	26,7
TMD	1783,30	2200,6	1922,9	2813,9
Autres antidépresseurs				
DVLF	768,61	825,1	674,4	879,1
DVLF-glu	ND	ND	ND	ND
MSR	120,50	86,9	82,3	129,3
TNP	ND	ND	ND	ND
VLF	838,37	923,3	760,0	1257,4
Autre psycholeptique				
MPB	251,48	173,6	334,3	278,5
Autres médicaments de consommation courante				
CIBU	ND	ND	ND	ND
DCF	473,94	481,4	373,4	526,9
HIBU	ND	ND	ND	109,9
IBU	ND	ND	16,8	23,8
IBU-glu	ND	ND	ND	ND
KTP	90,41	32,7	173,0	260,8
KTP-glu	ND	ND	ND	ND
NPX	58,87	ND	148,9	137,5
NPX-glu	ND	ND	ND	ND
PAR	24,25	42,2	78,8	111,1
PAR-glu	ND	ND	ND	ND

TABLEAU A.7 – Concentrations mesurées dans les eaux traitées des STEP 5 et 6

Bilan étude : fréquences de détection, de quantification et concentrations

	$fqce_{quanti}$ (%)	C_{min} (ng/L)	C_{max} (ng/L)	C_{moy} (ng/L)	C_{med} (ng/L)
Anti-épileptiques					
CBZ	100	179	1122	556	506
GBP	100	1326	12413	4503	3976
HCBZ	100	450	2497	1453	1468
OCBZ	49	13	382	186	202
Substances Illicites					
BZL	100	6	783	235	190
COC	100	0,4	63	24	24
COCE	71	0,3	3	1	1
mCPP	0	-	-	-	-
MDA	42	2	20	6	6
MDMA	90	2	110	31	19
MPD	0	-	-	-	-
Benzodiazépine					
3-HBMZ	100	17	196	89	85
ALP	97	1	12	4	3
BMZ	100	4	36	12	12
CLZ	0	-	-	-	-
CZP-NDZ	100	8	78	31	22
DZP	100	1	12	3	3
LMZ	100	0,3	87	23	15
LRZ	100	14	153	59	47
OXA	100	435	4305	1476	1301
OXA-glu	18	2	6	4	3
PZP	100	6	94	34	22
TTZ	100	12	142	32	25
ZLP	100	3	21	8	8
ZLP-4A	100	97	542	301	301
ZLP-6A	100	3	51	20	18
ZOP	0	-	-	-	-
ZOP-N-ox.	0	-	-	-	-
Anti-Alzheimer					
DNP	97	0,4	3	2	2
GLT	92	3	44	15	15
MMT	100	28	257	102	100
RVS	100	2	72	10	7
Antidépresseurs ISRS					
CIT	100	129	2413	520	387
DCIT	100	41	784	221	148
FLX	13	4	12	10	11
MPRX	0	-	-	-	-
NFLX	0	-	-	-	-
PRX	0	-	-	-	-
SER	5	2	8	5	5
Opiacés et Opioides					
BUP	36	4	15	9	8
BUP-glu	0	-	-	-	-
COD	100	23	1265	681	660
COD-glu	66	2	38	13	9
EDDP	100	8	206	57	45
M3G	0	-	-	-	-
M6G	0	-	-	-	-
MPH	97	4	524	125	82
MTD	100	12	105	33	28

NCOD	95	9	284	85	78
OXY	56	3	27	11	11
TMD	100	312	2814	933	846
Autres antidépresseurs					
DVLF	100	189	1380	615	570
DVLF-glu	24	6	24	14	13
MSR	85	4	135	34	21
TNP	16	1	11	6	5
VLF	100	198	1560	655	574
Autre psycholeptique					
MPB	100	109	2091	888	623
Autres médicaments de consommation courante					
CIBU	0	-	-	-	-
DCF	100	137	544	371	389
HIBU	95	110	2924	1346	1365
IBU	97	17	1215	477	409
IBU-glu	0	-	-	-	-
KTP	100	33	1732	887	933
KTP-glu	0	-	-	-	-
NPX	97	59	2265	1065	1042
NPX-glu	0	-	-	-	-
PAR	95	7	1193	179	40
PAR-glu	0	-	-	-	-

TABLEAU A.8 – Fréquences de détection, de quantification et concentrations mesurées dans les 39 échantillons d'effluents des 6 STEP étudiées

ANNEXE 4.2 – Etude de la contamination de la Jalle d'Eysines

Données physico-chimiques

	T (°C)	pH	c (µS/cm)
point 1 (amont)	11.2	7,96	312
point 2 (aval 30 m)	11.8	7,72	327
point 3 (aval 1,1 km)	12.2	7,15	336
point 4 (aval 2,3 km)	12.3	7,4	410
point 5 (aval 4,2 km)	12.3	7,12	335
point 6 (non impacté)	11.7	7,1	299
point 7 (aval 9,2 km)	12.4	7,29	341

TABLEAU A.9 – Données physico-chimiques mesurée en Jalle d'Eysines le jour du prélèvement

	$fqce_{détect.}$ (%)	$fqce_{quanti.}$ (%)	LQ ($ng.L^{-1}$)	Amont $C_{Point\ 1}$ ($ng.L^{-1}$)	Bras N.I. $C_{Point\ 6}$ ($ng.L^{-1}$)	$C_{Point\ 2}$ ($ng.L^{-1}$)	$C_{Point\ 3}$ ($ng.L^{-1}$)	Aval $C_{Point\ 4}$ ($ng.L^{-1}$)	$C_{Point\ 5}$ ($ng.L^{-1}$)	$C_{Point\ 7}$ ($ng.L^{-1}$)
Anti-épileptiques										
CBZ	100	100	0,2	18,15	49,34	118,24	158,78	126,65	160,86	140,92
GBP	100	100	0,1	81,58	70,39	167,44	244,16	233,44	203,41	208,53
HCBZ	100	100	0,9	8,47	20,49	45,31	74,79	61,79	56,71	53,39
OCBZ	29	29	0,3	ND	ND	ND	ND	1,93	ND	3,26
Substances Illicites										
BZL	100	100	0,1	1,53	0,78	11,06	16,60	10,90	20,83	11,61
COC	100	100	0,1	0,19	0,19	2,12	1,70	0,80	3,02	1,96
COCE	0	0	0,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
mCPP	0	0	0,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MDA	0	0	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MDMA	71	71	0,2	ND	ND	1,33	2,00	1,09	2,50	1,38
MPD	0	0	3,4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzodiazépines										
3-HBMZ	71	57	1,5	ND	<LQ	4,74	5,99	4,83	4,85	4,65
ALP	0	0	0,4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BMZ	71	57	0,4	ND	<LQ	0,76	0,71	0,87	0,75	0,70
CLZ	0	0	0,4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CZP-NDZ	100	100	0,2	0,38	0,38	1,70	1,91	1,59	1,94	1,99
DZP	29	29	0,1	ND	ND	ND	0,20	0,19	ND	ND
LMZ	0	0	0,7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
LRZ	71	71	0,4	ND	ND	2,16	2,98	2,32	3,03	2,80
OXA	100	100	0,1	15,72	18,72	93,26	114,66	85,13	114,78	103,25
OXA-glu	0	0	0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PZP	100	100	0,1	0,61	0,53	1,87	2,34	1,98	3,23	2,19
TTZ	71	71	0,1	ND	ND	3,01	3,56	5,20	4,21	4,68
ZLP	100	71	0,1	<LQ	<LQ	0,52	0,71	0,76	0,79	0,48
ZLP-4A	100	100	0,2	4,74	3,53	16,57	21,36	18,86	20,63	18,22
ZLP-6A	100	100	0,1	0,38	0,26	1,50	1,98	1,50	1,83	1,89
ZOP	0	0	0,9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ZOP-N-ox.	0	0	0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer										
DNP	0	0	1,6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
GLT	0	0	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

MMT	100	100	0,2	3,06	2,58	8,41	10,64	6,91	9,72	8,72
RVS	0	0	0,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides										
BUP	0	0	1,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BUP-glu	0	0	0,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
COD	100	100	0,4	6,43	1,73	13,95	19,85	12,61	25,59	17,33
COD-glu	71	71	0,3	<LQ	<LQ	0,65	0,70	0,59	0,57	0,35
EDDP	86	86	0,1	0,37	ND	2,44	2,85	2,54	2,55	2,69
M3G	0	0	0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M6G	0	0	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MPH	0	0	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MTD	86	86	0,3	0,27	ND	1,58	0,90	0,87	1,21	0,83
NCOD	0	0	0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OXY	0	0	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TMD	100	100	3,3	18,64	20,56	87,94	115,00	90,59	106,70	95,62
Autres antidépresseurs										
DVLF	100	100	0,2	12,04	15,00	46,01	59,76	50,84	49,32	51,62
DVLF-glu	0	0	0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MSR	0	0	0,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TNP	0	0	1,7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VLF	100	100	0,3	12,00	7,82	42,54	50,14	39,33	47,25	39,84
Autre psycholeptique										
MPB	100	100	0,9	40,24	20,58	71,96	79,47	64,62	62,75	66,63
Autres médicaments de consommation courante										
CIBU	0	0	9,7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DCF	100	100	1	26,53	18,63	68,17	88,94	105,83	56,62	76,63
HIBU	71	71	0,9	ND	ND	19,47	73,39	67,03	185,57	45,53
IBU	86	86	1,2	4,26	ND	4,36	6,32	8,68	20,15	5,83
IBU-glu	0	0	3,5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
KTP	86	86	0,1	6,06	ND	13,01	18,04	14,46	41,68	8,33
KTP-glu	0	0	17,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NPX	71	71	0,6	ND	ND	21,09	17,87	13,34	46,27	19,59
NPX-glu	0	0	8,7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PAR	100	100	0,1	101,82	105,84	78,29	54,48	237,83	17,94	108,79
PAR-glu	0	0	3,6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

TABLEAU A.10 – Concentrations mesurées dans les eaux de surface de la Jalle d'Eysines en amont, dans le bras non impacté et en aval de la STEP.

ANNEXE 4.3 – Concentrations mesurées dans les eaux de surface à proximité de points de captage d'eau potable

	$f_{détec,}$	f_{quanti}	LQ	Seine					Marne				
				19/4 C	30/4 C	2/5 C	6/5 C	14/5 C	19/4 C	30/4 C	2/5 C	6/5 C	14/5 C
	(%)	(%)	(ng/L)	(ng/L)	(ng/L)	(ng/L)	(ng/L)	(ng/L)	(ng/L)	(ng/L)	(ng/L)	(ng/L)	(ng/L)
Anti-épileptiques													
CBZ	100	100	0,2	6,91	9,28	7,26	6,39	5,04	10,65	11,10	12,76	11,08	6,92
GBP	100	100	0,1	24,02	42,51	23,75	14,67	21,08	47,48	44,42	31,25	25,93	28,92
HCBZ	100	100	0,9	10,61	13,38	9,06	7,75	8,56	16,05	18,09	16,95	14,73	11,05
OCBZ	90	90	0,3	0,50	0,79	0,67	0,60	ND	0,81	1,87	2,02	1,14	1,15
Substances Illicites													
BZL	100	100	0,1	0,57	0,65	0,51	0,52	0,43	0,86	0,91	1,07	0,87	0,56
COC	100	0	0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
COCE	0	0	0,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
mCPP	0	0	0,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MDA	0	0	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MDMA	0	0	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MPD	0	0	3,4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzodiazépines													
3-HBMZ	0	0	1,5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ALP	0	0	0,4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BMZ	60	0	0,4	ND	<LOQ	ND	ND	ND	<LOQ	<LOQ	0,24	0,18	0,22
CLZ	0	0	0,4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CZP-NDZ	100	100	0,2	0,26	0,45	0,32	0,27	0,27	0,65	0,52	0,58	0,60	0,35
DZP	100	0	0,1	0,06	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,16	<LOQ	0,14	<LOQ	<LOQ
LMZ	100	0	0,7	<LOQ	0,21	0,20	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,26	0,31	<LOQ	<LOQ
LRZ	90	90	0,4	0,49	0,87	0,54	0,44	ND	0,79	0,85	0,73	0,73	0,45
OXA	100	100	0,1	10,48	15,75	12,66	10,03	7,68	13,67	12,68	14,58	13,32	7,77
OXA-glu	0	0	0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PZP	100	100	0,1	0,35	0,41	0,30	0,16	0,22	0,41	0,36	0,38	0,19	0,21
TTZ	100	100	0,1	0,46	0,64	0,41	0,26	0,23	0,86	0,92	0,91	0,59	0,27
ZLP	90	0	0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
ZLP-4A	100	80	0,2	2,42	1,12	<LOQ	1,59	0,79	2,24	1,42	<LOQ	2,48	1,19
ZLP-6A	0	0	0,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ZOP	0	0	0,9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ZOP-N-ox.	0	0	0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer													
DNP	20	0	1,6	<LOQ	ND	ND	ND	ND	<LOQ	ND	ND	ND	ND
GLT	0	0	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MMT	100	100	0,2	0,32	0,52	0,41	0,26	0,26	0,55	0,69	0,75	0,48	0,31
RVS	0	0	0,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Antidépresseurs ISRS													
CIT	100	100	0,4	0,99	1,50	1,48	1,07	0,85	1,27	1,60	1,88	1,06	1,06
DCIT	100	70	0,4	0,79	1,24	<LOQ	<LOQ	0,43	1,22	1,58	1,79	<LOQ	0,56
FLX	40	0	3,4	ND	ND	<LOQ	<LOQ	ND	ND	ND	<LOQ	<LOQ	ND
MPRX	0	0	1,7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NFLX	0	0	16,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PRX	0	0	1,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
SER	0	0	1,6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides													
BUP	0	0	1,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BUP-glu	0	0	0,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
COD	100	100	0,4	6,20	5,08	5,00	4,02	2,80	7,91	7,04	8,24	7,47	4,53
COD-glu	90	30	0,4	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,53	<LOQ	0,77	<LOQ	0,63
EDDP	100	100	0,1	0,70	0,99	0,81	0,68	0,50	1,05	1,12	1,18	1,28	0,67
M3G	0	0	0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
M6G	0	0	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MPH	50	50	0,2	ND	ND	0,40	ND	ND	0,95	ND	0,61	0,55	0,67
MTD	100	100	0,3	0,54	0,58	0,60	0,62	0,49	0,66	0,63	0,68	0,70	0,57
NCOD	40	40	0,8	ND	2,46	ND	ND	ND	3,16	3,30	3,85	ND	ND
OXY	0	0	0,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
TMD	100	100	3,3	16,69	23,02	18,08	15,49	11,81	25,18	26,93	30,31	28,58	16,12
Autres antidépresseurs													
DVLF	100	100	0,2	8,25	10,18	8,64	6,23	6,06	10,87	11,52	13,67	11,54	8,79
DVLF-glu	0	0	0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MSR	40	10	0,3	<LOQ	<LOQ	ND	ND	ND	<LOQ	ND	0,53	ND	ND
TNP	0	0	1,7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
VLF	100	100	0,3	3,90	5,14	4,28	3,22	2,73	5,47	6,74	7,74	6,01	3,87
Autre psycholeptique													
MPB	60	10	0,9	<LOQ	1,10	ND	ND	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND
Autres médicaments de consommation courante													
CIBU	0	0	9,7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

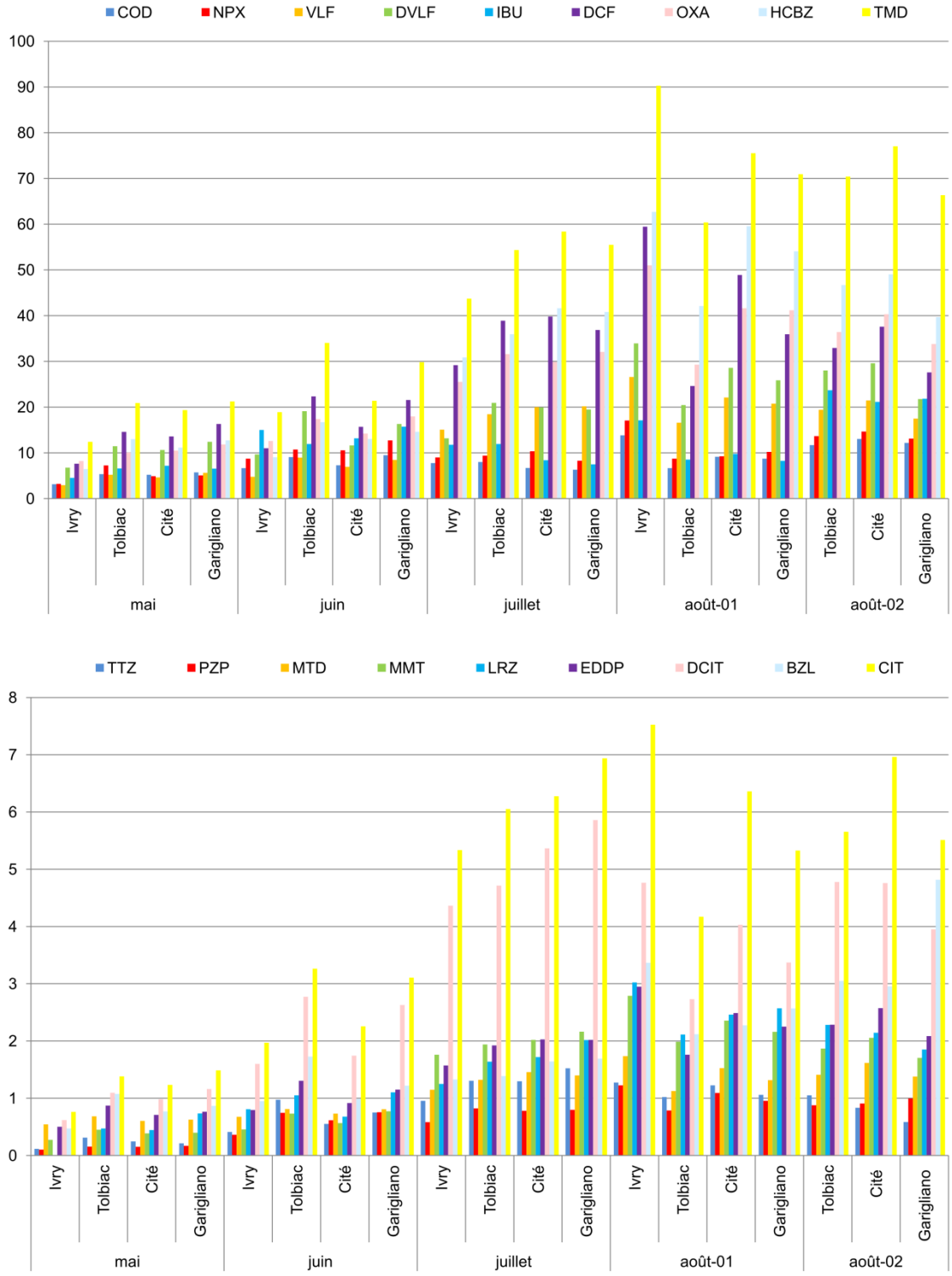
DCF	100	100	1	*	10,04	9,60	7,76	5,62	*	11,60	12,12	13,91	9,45
HIBU	50	30	0,9	ND	<LOQ	ND	ND	ND	12,81	<LOQ	10,21	8,93	ND
IBU	90	90	1,2	ND	5,06	5,36	4,79	2,78	10,24	10,27	11,01	8,63	5,55
IBU-glu	0	0	3,5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
KTP	100	100	0,1	1,46	0,47	0,93	0,95	0,42	3,52	2,66	1,59	1,84	2,09
KTP-glu	0	0	17,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NPX	100	100	0,6	4,79	4,41	2,75	3,96	3,11	6,42	5,47	7,81	6,88	4,91
NPX-glu	0	0	8,7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PAR	100	100	0,1	72,33	63,11	86,96	67,33	47,36	161,01	112,50	172,96	128,31	102,52
PAR-glu	0	0	3,6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

* : suite à une prise de diclofénac dans le cadre d'un traitement médical au jour de l'analyse, une contamination non négligeable des blancs a été observée (≈10 ng.L^{-1}). La mesure de cet analyte n'a donc pas été prise en compte pour cette campagne.

TABLEAU A.11 – Fréquences de détection, de quantification et concentrations mesurées dans des eaux de captage au niveau des deux sites étudiés.

ANNEXE 4.4 – Concentrations mesurées dans les eaux de surface en Seine au niveau de la ville de Paris

Variabilité semi-saisonnière



Concentrations mesurées pour une sélection de représentative de composés durant les campagnes de mesure en Seine

Résultats Campagne 1

	14/05/2013			
	Ivry C (ng/L)	**Tolbiac C (ng/L)**	**Cité C (ng/L)**	**Garigliano C (ng/L)**
Anti-épileptiques				
CBZ	4,75	7,67	7,25	7,93
GBP	20,47	35,24	32,40	36,07
HCBZ	6,45	13,00	11,13	12,71
OCBZ	0,38	1,23	1,27	1,46
Substances Illicites				
BZL	0,47	1,07	0,77	0,87
COC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
COCE	ND	ND	ND	ND
mCPP	ND	ND	ND	ND
MDA	ND	ND	ND	ND
MDMA	ND	ND	ND	ND
MPD	ND	ND	ND	ND
Benzodiazépines				
3-HBMZ	ND	ND	ND	ND
ALP	ND	ND	ND	ND
BMZ	ND	0,20	0,21	0,16
CLZ	ND	ND	ND	ND
CZP-NDZ	0,21	0,30	0,33	0,36
DZP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
LMZ	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ
LRZ	ND	0,47	0,44	0,73
OXA	8,21	10,07	10,50	11,82
OXA-glu	ND	ND	ND	ND
PZP	0,10	0,15	0,15	0,17
TTZ	0,12	0,31	0,25	0,21
ZLP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
ZLP-4A	0,91	1,72	1,75	1,74
ZLP-6A	ND	ND	ND	ND
ZOP	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ
ZOP-N-ox.	ND	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer				
DNP	ND	ND	ND	ND
GLT	ND	ND	ND	ND
MMT	0,27	0,45	0,39	0,40
RVS	ND	ND	ND	ND
Antidépresseurs ISRS				
CIT	0,76	1,38	1,23	1,49
DCIT	0,62	1,09	0,98	1,16
FLX	ND	ND	ND	ND
MPRX	ND	ND	ND	ND
NFLX	ND	ND	ND	ND
PRX	ND	ND	ND	ND
SER	ND	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides				
BUP	ND	ND	ND	ND
BUP-glu	ND	ND	ND	ND
COD	3,13	5,36	5,19	5,70
COD-glu	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
EDDP	0,50	0,87	0,71	0,76
M3G	ND	ND	ND	ND
M6G	ND	ND	ND	ND
MPH	0,46	0,75	0,62	0,56

MTD	0,54	0,68	0,60	0,63
NCOD	ND	ND	ND	ND
OXY	ND	ND	ND	ND
TMD	12,39	20,89	19,34	21,25
Autres antidépresseurs				
DVLF	6,76	11,46	10,62	12,41
DVLF-glu	ND	ND	ND	ND
MSR	ND	ND	ND	ND
TNP	ND	ND	ND	ND
VLF	2,95	5,21	4,61	5,61
Autre psycholeptique				
MPB	ND	ND	ND	<LOQ
Autres médicaments de consommation courante				
CIBU	ND	ND	ND	ND
DCF	7,63	14,57	13,58	16,31
HIBU	ND	ND	ND	ND
IBU	4,53	6,59	7,19	6,55
IBU-glu	ND	ND	ND	ND
KTP	5,91	3,65	5,05	4,87
KTP-glu	ND	ND	ND	ND
NPX	3,20	7,23	4,91	5,07
NPX-glu	ND	ND	ND	ND
PAR	50,72	107,41	131,81	119,46
PAR-glu	ND	ND	ND	ND

TABLEAU A.12 – Concentrations mesurées dans les eaux de la Seine lors de la première campagne de mesure

Résultats Campagne 2

			12/06/2013	
	Ivry C (ng/L)	**Tolbiac C (ng/L)**	**Cité C (ng/L)**	**Garigliano C (ng/L)**
Anti-épileptiques				
CBZ	8,60	12,61	8,48	11,86
GBP	25,12	42,79	32,72	41,20
HCBZ	9,02	16,68	13,02	14,59
OCBZ	0,81	2,08	0,92	1,69
Substances Illicites				
BZL	0,95	1,73	0,99	1,22
COC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
COCE	ND	ND	ND	ND
mCPP	ND	ND	ND	ND
MDA	ND	ND	ND	ND
MDMA	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ
MPD	ND	ND	ND	ND
Benzodiazépines				
3-HBMZ	ND	ND	ND	ND
ALP	ND	ND	ND	ND
BMZ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
CLZ	ND	ND	ND	ND
CZP-NDZ	<LOQ	0,56	<LOQ	0,50
DZP	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ
LMZ	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ
LRZ	0,81	1,05	0,68	1,10
OXA	12,59	17,39	14,20	17,95
OXA-glu	ND	ND	ND	ND
PZP	0,36	0,74	0,61	0,76

TTZ	0,41	0,97	0,55	0,75
ZLP	<LOQ	0,12	<LOQ	0,11
ZLP-4A	<LOQ	3,63	<LOQ	3,09
ZLP-6A	ND	ND	ND	ND
ZOP	ND	<LOQ	ND	<LOQ
ZOP-N-ox.	ND	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer				
DNP	ND	ND	ND	ND
GLT	ND	ND	ND	ND
MMT	0,46	0,73	0,57	0,77
RVS	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Antidépresseurs ISRS				
CIT	1,97	3,26	2,26	3,10
DCIT	1,60	2,77	1,74	2,63
FLX	ND	ND	ND	ND
MPRX	ND	ND	ND	ND
NFLX	ND	ND	ND	ND
PRX	ND	ND	ND	ND
SER	ND	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides				
BUP	ND	ND	ND	ND
BUP-glu	ND	ND	ND	ND
COD	6,64	9,05	7,27	9,47
COD-glu	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,84
EDDP	0,79	1,31	0,92	1,15
M3G	ND	ND	ND	ND
M6G	ND	ND	ND	ND
MPH	1,48	1,21	1,25	1,16
MTD	0,68	0,81	0,73	0,81
NCOD	<LOQ	<LOQ	ND	<LOQ
OXY	ND	ND	ND	ND
TMD	18,90	34,05	21,38	29,81
Autres antidépresseurs				
DVLF	9,64	19,11	11,62	16,30
DVLF-glu	ND	ND	ND	ND
MSR	ND	0,70	<LOQ	0,66
TNP	ND	ND	ND	ND
VLF	4,76	8,97	6,93	8,45
Autre psycholeptique				
MPB	ND	<LOQ	ND	<LOQ
Autres médicaments de consommation courante				
CIBU	ND	ND	ND	ND
DCF	11,00	22,35	15,67	21,54
HIBU	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
IBU	15,01	11,93	13,18	15,74
IBU-glu	ND	ND	ND	ND
KTP	11,87	5,65	11,20	9,32
KTP-glu	ND	ND	ND	ND
NPX	8,73	10,73	10,55	12,71
NPX-glu	ND	ND	ND	ND
PAR	295,81	167,10	246,40	252,87
PAR-glu	ND	ND	ND	ND

TABLEAU A.13 – Concentrations mesurées dans les eaux de la Seine lors de la seconde campagne de mesure

Résultats Campagne 3

	09/07/2013			
	Ivry C (ng/L)	**Tolbiac C (ng/L)**	**Cité C (ng/L)**	**Garigliano C (ng/L)**
Anti-épileptiques				
CBZ	17,09	20,02	21,04	21,65
GBP	56,48	78,15	81,62	70,63
HCBZ	30,84	35,94	41,61	40,79
OCBZ	4,23	5,16	5,51	4,88
Substances Illicites				
BZL	1,33	1,39	1,64	1,69
COC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
COCE	ND	ND	ND	ND
mCPP	ND	ND	ND	ND
MDA	ND	ND	ND	ND
MDMA	0,88	0,95	1,11	1,23
MPD	ND	ND	ND	ND
Benzodiazépines				
3-HBMZ	1,53	2,21	2,16	2,21
ALP	<LOQ	ND	ND	ND
BMZ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
CLZ	ND	ND	ND	ND
CZP-NDZ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
DZP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
LMZ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
LRZ	1,25	1,64	1,72	2,02
OXA	25,50	31,57	29,86	32,06
OXA-glu	ND	ND	ND	ND
PZP	0,58	0,82	0,78	0,80
TTZ	0,95	1,30	1,30	1,52
ZLP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
ZLP-4A	2,59	3,28	4,06	3,44
ZLP-6A	0,54	ND	0,49	0,76
ZOP	<LOQ	<LOQ	1,07	<LOQ
ZOP-N-ox.	ND	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer				
DNP	ND	ND	ND	ND
GLT	ND	ND	ND	ND
MMT	1,76	1,94	2,02	2,16
RVS	0,42	0,48	0,58	0,52
Antidépresseurs ISRS				
CIT	5,34	6,05	6,28	6,94
DCIT	4,36	4,71	5,37	5,86
FLX	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ
MPRX	ND	ND	ND	ND
NFLX	ND	ND	ND	ND
PRX	ND	ND	ND	ND
SER	ND	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides				
BUP	ND	ND	ND	ND
BUP-glu	ND	ND	ND	ND
COD	7,75	8,00	6,70	6,32
COD-glu	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
EDDP	1,57	1,92	2,03	2,02
M3G	ND	ND	ND	ND
M6G	ND	ND	ND	ND
MPH	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

MTD	1,15	1,32	1,46	1,40
NCOD	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
OXY	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ
TMD	43,71	54,34	58,37	55,46
Autres antidépresseurs				
DVLF	13,15	20,94	19,91	19,48
DVLF-glu	ND	ND	ND	ND
MSR	0,96	1,38	1,34	1,06
TNP	ND	ND	ND	ND
VLF	15,08	18,46	19,99	20,17
Autre psycholeptique				
MPB	2,24	2,13	3,16	3,05
Autres médicaments de consommation courante				
CIBU	ND	ND	ND	ND
DCF	29,18	38,89	39,79	36,87
HIBU	10,15	8,50	<LOQ	<LOQ
IBU	11,77	11,93	8,36	7,49
IBU-glu	ND	ND	ND	ND
KTP	17,91	10,82	7,97	4,76
KTP-glu	ND	ND	ND	ND
NPX	9,00	9,38	10,34	8,27
NPX-glu	ND	ND	ND	ND
PAR	230,94	212,06	160,81	121,33
PAR-glu	ND	ND	ND	ND

TABLEAU A.14 – Concentrations mesurées dans les eaux de la Seine lors de la troisième campagne de mesure

Résultats Campagne 4

	13/08/2013			
	Ivry C (ng/L)	**Tolbiac C (ng/L)**	**Cité C (ng/L)**	**Garigliano C (ng/L)**
Anti-épileptiques				
CBZ	31,82	22,22	28,43	27,68
GBP	122,37	81,39	107,19	102,28
HCBZ	62,70	42,08	59,55	54,08
OCBZ	9,24	4,07	7,09	4,62
Substances Illicites				
BZL	3,37	2,12	2,27	2,57
COC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
COCE	ND	ND	ND	ND
mCPP	ND	ND	ND	ND
MDA	ND	ND	ND	ND
MDMA	1,57	0,58	1,19	0,83
MPD	ND	ND	ND	ND
Benzodiazépines				
3-HBMZ	3,30	2,01	2,97	2,55
ALP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BMZ	0,72	0,43	0,56	0,52
CLZ	ND	ND	ND	ND
CZP-NDZ	1,45	1,12	1,39	1,35
DZP	0,38	0,24	0,32	0,32
LMZ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
LRZ	3,02	2,11	2,46	2,57
OXA	50,99	29,26	41,60	41,15
OXA-glu	ND	ND	ND	ND
PZP	1,22	0,79	1,09	0,95
TTZ	1,27	1,02	1,23	1,06
ZLP	0,28	0,14	0,25	0,16
ZLP-4A	8,50	3,30	6,10	5,08
ZLP-6A	1,01	<LOQ	0,84	<LOQ
ZOP	3,51	1,46	2,46	<LOQ
ZOP-N-ox.	ND	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer				
DNP	ND	ND	ND	ND
GLT	ND	ND	ND	ND
MMT	2,79	1,99	2,36	2,16
RVS	0,79	0,57	0,69	0,61
Antidépresseurs ISRS				
CIT	7,52	4,17	6,36	5,33
DCIT	4,76	2,73	4,03	3,37
FLX	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
MPRX	ND	ND	ND	ND
NFLX	ND	ND	ND	ND
PRX	ND	ND	ND	ND
SER	ND	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides				
BUP	ND	ND	ND	ND
BUP-glu	ND	ND	ND	ND
COD	13,84	6,64	9,14	8,71
COD-glu	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
EDDP	2,95	1,76	2,49	2,25
M3G	ND	ND	ND	ND
M6G	ND	ND	ND	ND
MPH	1,25	0,47	0,64	0,74

MTD	1,74	1,13	1,53	1,32
NCOD	2,95	2,12	2,20	2,60
OXY	0,47	ND	ND	0,55
TMD	90,28	60,37	75,50	70,93
Autres antidépresseurs				
DVLF	33,91	20,45	28,57	25,84
DVLF-glu	ND	ND	ND	ND
MSR	1,60	<LOQ	<LOQ	<LOQ
TNP	ND	ND	ND	ND
VLF	26,60	16,58	22,11	20,75
Autre psycholeptique				
MPB	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Autres médicaments de consommation courante				
CIBU	ND	ND	ND	ND
DCF	59,44	24,61	48,89	35,92
HIBU	7,68	6,76	4,65	5,15
IBU	17,09	8,52	9,74	8,23
IBU-glu	ND	ND	ND	ND
KTP	36,55	3,16	12,91	1,99
KTP-glu	ND	ND	ND	ND
NPX	17,06	8,71	9,23	10,21
NPX-glu	ND	ND	ND	ND
PAR	53,45	40,06	48,24	42,72
PAR-glu	ND	ND	ND	ND

TABLEAU A.15 – Concentrations mesurées dans les eaux de la Seine lors de la quatrième campagne de mesure

Résultats Campagne 5

	27/08/2013		
	Tolbiac C (ng/L)	**Cité C (ng/L)**	**Garigliano C (ng/L)**
Anti-épileptiques			
CBZ	24,94	28,66	23,70
GBP	107,71	118,88	97,82
HCBZ	46,68	49,02	39,64
OCBZ	5,94	6,67	3,34
Substances Illicites			
BZL	3,05	2,96	4,82
COC	0,55	0,57	8,26
COCE	ND	<LOQ	<LOQ
mCPP	ND	ND	ND
MDA	ND	ND	ND
MDMA	0,58	0,65	1,07
MPD	<LOQ	ND	ND
Benzodiazépines			
3-HBMZ	2,46	2,72	2,09
ALP	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BMZ	0,64	0,73	0,56
CLZ	ND	ND	ND
CZP-NDZ	1,37	1,47	1,19
DZP	0,29	0,38	0,27
LMZ	<LOQ	0,80	<LOQ
LRZ	2,28	2,14	1,85
OXA	36,41	40,29	33,79
OXA-glu	0,33	ND	ND
PZP	0,88	0,91	0,99
TTZ	1,05	0,83	0,58
ZLP	0,19	0,21	0,17
ZLP-4A	4,72	5,88	3,98
ZLP-6A	0,32	0,52	0,57
ZOP	2,93	3,41	2,30
ZOP-N-ox.	ND	ND	ND
Anti-Alzheimer			
DNP	ND	ND	ND
GLT	ND	ND	ND
MMT	1,87	2,06	1,71
RVS	0,76	0,79	0,70
Antidépresseurs ISRS			
CIT	5,65	6,96	5,51
DCIT	4,78	4,76	3,95
FLX	<LOQ	<LOQ	<LOQ
MPRX	ND	ND	ND
NFLX	ND	ND	ND
PRX	ND	ND	ND
SER	ND	ND	ND
Opiacés et Opioides			
BUP	ND	ND	ND
BUP-glu	ND	ND	ND
COD	11,70	13,04	12,19
COD-glu	3,17	1,45	1,64
EDDP	2,28	2,57	2,09
M3G	ND	ND	ND
M6G	ND	ND	ND
MPH	1,53	1,51	1,83

MTD	1,41	1,62	1,38
NCOD	2,82	3,18	2,85
OXY	<LOQ	<LOQ	<LOQ
TMD	70,40	77,02	66,33
Autres antidépresseurs			
DVLF	28,00	29,58	21,75
DVLF-glu	<LOQ	ND	<LOQ
MSR	1,58	2,06	1,60
TNP	ND	ND	ND
VLF	19,42	21,43	17,50
Autre psycholeptique			
MPB	1,91	1,95	2,13
Autres médicaments de consommation courante			
CIBU	ND	ND	ND
DCF	32,92	37,59	27,59
HIBU	14,86	14,51	19,15
IBU	23,70	21,12	21,83
IBU-glu	ND	ND	ND
KTP	8,05	12,38	6,50
KTP-glu	ND	ND	ND
NPX	13,64	14,67	13,09
NPX-glu	ND	ND	ND
PAR	470,88	460,73	542,32
PAR-glu	ND	ND	ND

TABLEAU A.16 – Concentrations mesurées dans les eaux de la Seine lors de la cinquième campagne de mesure

Bilan étude : fréquences de détection, de quantification et concentrations

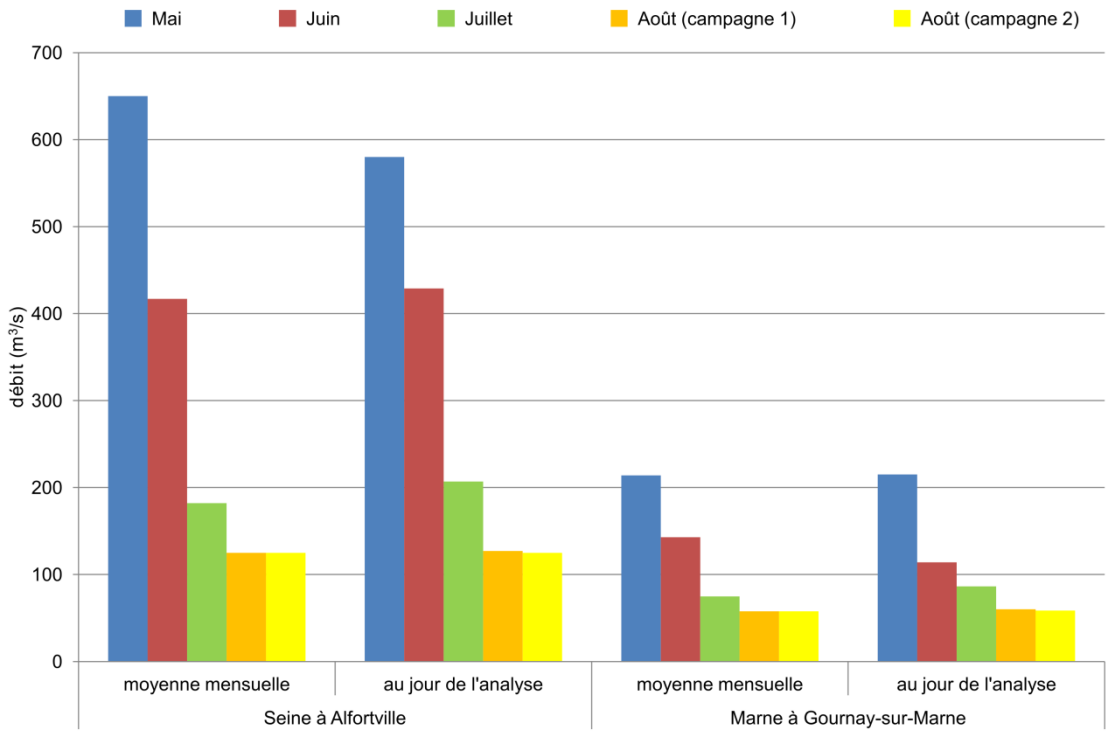
	$f_{détection}$ (%)	$f_{quantification}$ (%)	LQ (ng/L)	$C_{min.}$ (ng/L)	$C_{max.}$ (ng/L)	$C_{moy.}$[1] (ng/L)	$C_{med.}$[1] (ng/L)
Anti-épileptiques							
CBZ	100	100	0,2	4,75	31,82	17,71	20,02
GBP	100	100	0,1	20,47	122,37	67,92	70,63
HCBZ	100	100	0,9	6,45	62,70	31,55	35,94
OCBZ	100	100	0,3	0,38	9,24	3,72	4,07
Substances Illicites							
BZL	100	100	0,1	0,47	4,82	1,86	1,64
COC	100	16	0,1	<LQ	8,26	0,54	0,05
COCE	11	0	0,1	<LQ	<LQ	0,05	0,05
mCPP	0	0	0,3	-	-	-	-
MDA	0	0	0,2	-	-	-	-
MDMA	74	58	0,2	<LQ	1,57	0,78	0,86
MPD	5	0	3,4	<LQ	<LQ	1,70	1,70
Benzodiazépines							
3-HBMZ	58	58	1,5	1,53	3,30	2,38	2,21
ALP	42	0	0,4	<LQ	<LQ	0,20	0,20
BMZ	95	53	0,4	<LQ	0,73	0,35	0,20
CLZ	0	0	0,4	-	-	-	-
CZP-NDZ	100	68	0,2	<LQ	1,47	0,64	0,36
DZP	95	53	0,1	<LQ	0,38	0,15	0,05
LMZ	89	5	0,7	<LQ	0,80	0,38	0,35
LRZ	95	95	0,4	<LQ	3,02	1,57	1,68
OXA	100	100	0,1	8,21	50,99	26,06	29,26
OXA-glu	5	0	0,8	<LQ	<LQ	0,40	0,40
PZP	100	100	0,1	0,10	1,22	0,68	0,78
TTZ	100	100	0,1	0,12	1,52	0,83	0,95
ZLP	100	47	0,1	<LQ	0,28	0,11	0,05
ZLP-4A	100	89	0,2	<LQ	8,50	3,37	3,30
ZLP-6A	53	42	0,1	<LQ	1,01	0,52	0,53
ZOP	89	37	0,9	<LQ	3,51	1,32	0,45
ZOP-N-ox.	0	0	0,8	-	-	-	-
Anti-Alzheimer							
DNP	0	0	1,6	-	-	-	-
GLT	0	0	0,2	-	-	-	-
MMT	100	100	0,2	0,27	2,79	1,41	1,76
RVS	79	58	0,3	<LQ	0,79	0,50	0,57
Antidépresseurs ISRS							
CIT	100	100	0,4	0,76	7,52	4,29	5,33
DCIT	100	100	0,4	0,62	5,86	3,23	3,37
FLX	53	0	3,4	<LQ	<LQ	1,70	1,70
MPRX	0	0	1,7	-	-	-	-
NFLX	0	0	16,3	-	-	-	-
PRX	0	0	1,8	-	-	-	-
SER	0	0	1,6	-	-	-	-
Opiacés et Opioides							
BUP	0	0	1,8	-	-	-	-
BUP-glu	0	0	0,3	-	-	-	-
COD	100	100	0,4	3,13	13,84	8,20	7,75
COD-glu	100	16	0,4	<LQ	3,17	0,50	0,20
EDDP	100	100	0,1	0,50	2,95	1,63	1,76
M3G	0	0	0,8	-	-	-	-
M6G	0	0	0,2	-	-	-	-
MPH	100	79	0,2	<LQ	1,83	0,84	0,74
MTD	100	100	0,3	0,54	1,74	1,10	1,15

NCOD	74	37	0,8	<LQ	3,18	1,54	1,26
OXY	42	11	0,2	<LQ	0,55	0,20	0,10
TMD	100	100	3,3	12,39	90,28	47,41	54,34
Autres antidépresseurs							
DVLF	100	100	0,2	6,76	33,91	18,92	19,48
DVLF-glu	11	0	0,8	<LQ	<LQ	0,40	0,40
MSR	74	53	0,3	0,15	2,06	0,97	1,01
TNP	0	0	1,7	-	-	-	-
VLF	100	100	0,3	2,95	26,60	13,98	16,58
Autre psycholeptique							
MPB	74	37	0,9	<LQ	3,16	1,41	1,18
Autres médicaments de consommation courante							
CIBU	0	0	9,7	-	-	-	-
DCF	100	100	1	7,63	59,44	28,12	27,59
HIBU	79	47	0,9	<LQ	19,15	6,28	5,15
IBU	100	100	1,2	4,53	23,70	12,13	11,77
IBU-glu	0	0	3,5	-	-	-	-
KTP	100	100	0,1	1,99	36,55	9,50	7,97
KTP-glu	0	0	17,8	-	-	-	-
NPX	100	100	0,6	3,20	17,06	9,83	9,38
NPX-glu	0	0	8,7	-	-	-	-
PAR	100	100	0,1	40,06	542,32	197,64	160,81
PAR-glu	0	0	3,6	-	-	-	-

[1] : afin de tenir compte du poids des C<LQ pour le calcul des moyennes et médianes, une valeur de LQ/2 leur a été attribuée

TABLEAU A.17 – Fréquences de détection, de quantification et concentrations mesurées dans les 19 échantillons d'eaux de surface prélevés au niveau de la ville de Paris.

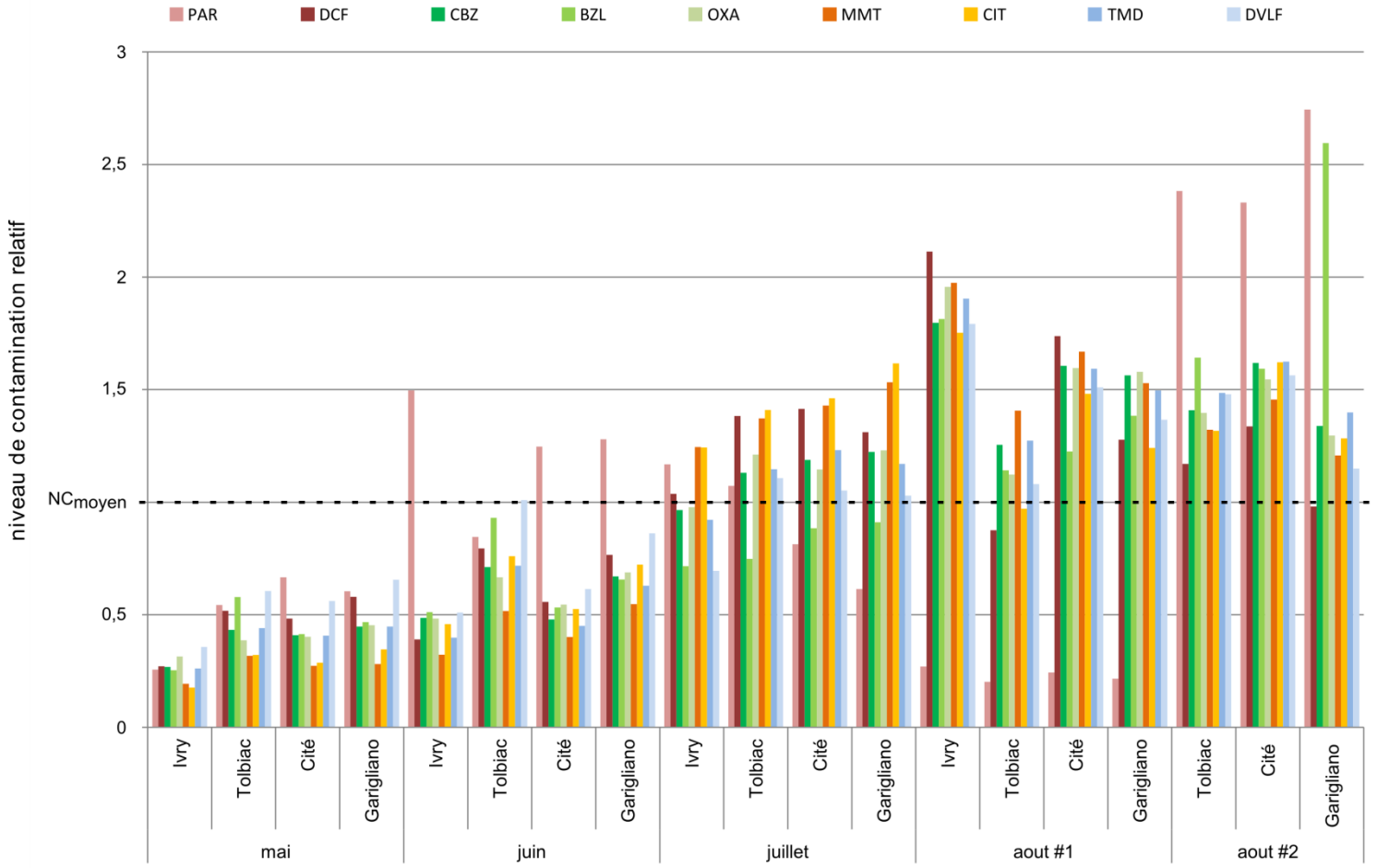
ANNEXE 4.5 – Débits de la Seine et de la Marne au cours des campagnes de mesure



Débit moyen mensuel et débit journalier de la Seine (en amont de la confluence) et de la Marne au cours des campagnes de mesure

(source : http://www.hydro.eaufrance.fr/)

ANNEXE 4.6 – Niveaux de contamination relatifs en paracétamol et en diclofénac par rapport à une sélection représentative de molécules psychotropes étudiées



Niveaux de contamination relatifs ($C_{mesurée}/C_{moyenne}$) observés au cours de la campagne de mesure en Seine pour une sélection de composés psychotropes ainsi que le paracétamol et le diclofénac

ANNEXE 5.1 – Calcul de l'incertitude-type composée de la concentration en analyte dans l'échantillon

Le modèle mathématique décrivant la concentration C en analyte dans l'échantillon est défini par :

$$C = 1000 \frac{\mathrm{C}^{*}(\mathrm{Q}_{\mathrm{ech}})\ f_{étal}\ (\mathrm{m}_3 - \mathrm{m}_2)}{(\mathrm{m}_2 - \mathrm{m}_1)\ \mathrm{R}} + f_{fid}$$

avec :
- C la concentration en analyte dans l'échantillon (ng.g^{-1})
- C^{*} la concentration de la solution de dopage d'étalons internes marqués (ng.g^{-1})
- $Q_{ech} = \frac{Q}{Q^{*}}$ le rapport de quantité modélisé dans l'échantillon (analyte/étalon interne marqué)
- m_1 la masse moyenne du flacon vide (n=3) (g)
- m_2 la masse moyenne du flacon avec l'eau prélevée (n=3) (g)
- m_3 la masse moyenne du flacon avec l'eau prélevée et la solution de dopage d'étalons internes marquées (n=3) (g)
- R le rendement moyen de la méthode de témoins positifs indépendants (n=4)
- $f_{étal}$ un facteur correctif lié à l'incertitude sur la concentration des solutions utilisées pour construire la courbe d'étalonnage
- f_{fid} un facteur correctif lié à la fidélité intermédiaire
- 1000 facteur de conversion des ng.g^{-1} en ng.L^{-1} en considérant la masse volumique de l'échantillon égale celle de l'eau (g.mL^{-1})

La loi de propagation des incertitudes exprime l'incertitude composée du résultat telle que :

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^{N}\left(\frac{\partial \mathrm{f}}{\partial \mathrm{x_i}}\right)^2 u^2(x_i) + 2\sum_{i=1}^{N-1}\sum_{j=i+1}^{N}\left(\frac{\partial \mathrm{f}}{\partial \mathrm{x_i}}\right)\left(\frac{\partial \mathrm{f}}{\partial \mathrm{x_j}}\right)u(x_i, x_j)}$$

avec :
- $u_c(y)$ l'incertitude composée de y
- f la fonction mathématique décrivant y
- x_i un paramètre de l'équation de y
- $u(x_i, x_j)$ la covariance estimée associée à x_i et x_j

Les grandeurs d'entrée du modèle étant indépendantes, les termes de covariances sont nuls. Il résulte alors du calcul de l'incertitude sur la concentration C en analyte dans l'échantillon :

$$u_C(C) = \sqrt{a^2u^2(f_{étal}) + b^2u^2(Q_{ech}) + d^2u^2(R) + e^2u^2(m_1) + g^2u^2(m_2) + h^2u^2(m_3) + k^2u^2(f_{fid})}$$

avec :
$$a^2 = \left(\frac{\partial f}{\partial f_{étal}}\right)^2 = \left(1000\ \frac{C^{*}(m_3 - m_2)\ (Q_{ech})}{(m_2 - m_1)\ R}\right)^2$$

$$b^2 = \left(\frac{\partial f}{\partial Q_{ech}}\right)^2 = \left(1000\ \frac{C^*\ f_{étal}(m_3 - m_2)}{(m_2 - m_1)\ R}\right)^2$$

$$d^2 = \left(\frac{\partial f}{\partial R}\right)^2 = \left(-1000\ \frac{C^*\ f_{étal}(m_3 - m_2)\ (Q_{ech})}{(m_2 - m_1)\ R^2}\right)^2$$

$$e^2 = \left(\frac{\partial f}{\partial m_1}\right)^2 = \left(-1000\ \frac{C^*\ f_{étal}(m_3 - m_2)\ (Q_{ech})}{(m_2 - m_1)^2\ R}\right)^2$$

$$g^2 = \left(\frac{\partial f}{\partial m_2}\right)^2 = \left(-1000\ \frac{C^*\ f_{étal}(m_2 - m_1)\ (Q_{ech}) - (m_1 - m_2)}{(m_2 - m_1)^2\ R}\right)^2$$

$$h^2 = \left(\frac{\partial f}{\partial m_3}\right)^2 = \left(1000\ \frac{C^*\ f_{étal}\ (Q_{ech})}{(m_2 - m_1)\ R}\right)^2$$

$$k^2 = \left(\frac{\partial f}{\partial f_{fid}}\right)^2 = (1)^2 = 1$$

ANNEXE 5.2 – Concentrations dans les eaux de la Seine et incertitudes laboratoires associées

Echantillons prélevés sur le site de Tolbiac le 17 septembre 2013 :

	G.P1A.R1	G.P1A.R2	G.P1B.R1	G.P1B.R2	G.P2A.R1	G.P2A.R2	G.P2B.R1	G.P2B.R2
	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})
HCBZ	30,4 ± 2,5	30,8 ± 2,6	28,9 ± 2,4	28,0 ± 2,4	31,2 ± 2,6	29,8 ± 2,5	27,6 ± 2,3	34,7 ± 2,9
ZLP-4A	7,89 ± 0,95	8,7 ± 1,0	7,51 ± 0,91	7,34 ± 0,88	7,89 ± 0,95	7,95 ± 0,96	8,15 ± 0,98	7,99 ± 0,96
BZL	1,420 ± 0,052	1,523 ± 0,056	1,360 ± 0,050	1,304 ± 0,048	1,422 ± 0,052	1,487 ± 0,054	1,410 ± 0,052	1,354 ± 0,050
CBZ	22,09 ± 0,45	22,11 ± 0,46	21,89 ± 0,45	20,87 ± 0,43	22,36 ± 0,46	22,12 ± 0,46	22,23 ± 0,46	22,30 ± 0,46
CIT	3,38 ± 0,19	3,38 ± 0,19	3,61 ± 0,21	3,35 ± 0,19	3,58 ± 0,20	3,80 ± 0,22	3,55 ± 0,20	3,71 ± 0,21
COC	0,09 ± 0,10	0,08 ± 0,10	0,08 ± 0,09	0,08 ± 0,09	0,08 ± 0,09	0,15 ± 0,18	0,07 ± 0,09	0,06 ± 0,07
COD	8,96 ± 0,37	8,89 ± 0,36	8,86 ± 0,36	8,45 ± 0,35	9,07 ± 0,37	9,51 ± 0,39	8,84 ± 0,36	9,56 ± 0,39
DCIT	2,50 ± 0,24	2,26 ± 0,22	2,68 ± 0,26	2,40 ± 0,23	2,70 ± 0,26	3,08 ± 0,30	2,51 ± 0,24	2,97 ± 0,29
DZP	0,230 ± 0,039	0,242 ± 0,041	0,233 ± 0,040	0,209 ± 0,036	0,229 ± 0,039	0,248 ± 0,043	0,218 ± 0,037	0,237 ± 0,037
DCF	27,35 ± 0,71	28,45 ± 0,74	27,77 ± 0,72	26,46 ± 0,69	28,74 ± 0,75	28,31 ± 0,74	27,77 ± 0,72	28,50 ± 0,74
EDDP	1,764 ± 0,042	1,774 ± 0,042	1,792 ± 0,043	1,679 ± 0,040	1,816 ± 0,043	1,888 ± 0,045	1,808 ± 0,043	1,852 ± 0,044
FLX	0,96 ± 0,55	0,88 ± 0,50	0,87 ± 0,50	0,86 ± 0,49	0,92 ± 0,53	1,03 ± 0,59	1,05 ± 0,60	1,10 ± 0,63
GBP	180 ± 15	179 ± 15	174 ± 15	163 ± 14	177 ± 15	185 ± 16	182 ± 16	187 ± 16
MDMA	0,386 ± 0,018	0,391 ± 0,018	0,368 ± 0,017	0,348 ± 0,016	0,407 ± 0,019	0,471 ± 0,022	0,390 ± 0,018	0,390 ± 0,018
MMT	1,71 ± 0,13	1,78 ± 0,13	1,68 ± 0,13	1,59 ± 0,12	1,77 ± 0,13	1,80 ± 0,14	1,73 ± 0,13	1,78 ± 0,13
MTD	0,564 ± 0,019	0,567 ± 0,019	0,570 ± 0,019	0,520 ± 0,017	0,587 ± 0,019	0,650 ± 0,022	0,586 ± 0,019	0,598 ± 0,020
NCOD	1,32 ± 0,11	1,34 ± 0,11	1,36 ± 0,11	1,25 ± 0,10	1,34 ± 0,11	1,49 ± 0,12	1,56 ± 0,13	1,37 ± 0,11
NDZ	0,926 ± 0,032	0,930 ± 0,032	0,923 ± 0,032	0,838 ± 0,029	0,936 ± 0,032	0,966 ± 0,033	0,926 ± 0,032	0,923 ± 0,032
DVLF	30,2 ± 1,5	29,9 ± 1,5	29,2 ± 1,4	27,7 ± 1,3	30,3 ± 1,5	30,4 ± 1,5	31,6 ± 1,5	29,6 ± 1,4
OXA	48,9 ± 5,6	50,9 ± 5,8	45,2 ± 5,1	43,7 ± 5,0	47,6 ± 5,4	43,7 ± 5,0	49, 7 ± 5,6	44,0 ± 5,0
PZP	0,476 ± 0,033	0,455 ± 0,031	0,485 ± 0,033	0,433 ± 0,030	0,478 ± 0,033	0,506 ± 0,035	0,474 ± 0,032	0,474 ± 0,032
TTZ	0,524 ± 0,086	0,61 ± 0,10	1,25 ± 0,20	1,27 ± 0,21	1,34 ± 0,22	1,07 ± 0,17	0,509 ± 0,083	0,97 ± 0,16
TMD	62,29 ± 1,85	62,60 ± 1,86	62,95 ± 1,87	59,28 ± 1,76	64,34 ± 1,91	64,47 ± 1,92	63,77 ± 1,89	64,73 ± 1,92
VLF	16,44 ± 0,36	16,29 ± 0,35	16,92 ± 0,37	15,65 ± 0,34	16,89 ± 0,36	17,06 ± 0,37	17,01 ± 0,37	17,06 ± 0,37
ZLP	0,149 ± 0,048	0,160 ± 0,051	0,146 ± 0,047	0,138 ± 0,044	0,152 ± 0,049	0,189 ± 0,061	0,151 ± 0,048	0,162 ± 0,052

G.xxx.xx : rive gauche / D.xxx.xx : rive droite
x.P1x.xx : préleveur 1 / x.P2x.xx : préleveur 2
x.xxA.xx : prélèvement A / x.xxB.xx : prélèvement B
x.xxx.R1 : répétition 1 / x.xxx.R2 : répétition 2
ND : Non Détécté
xx : <LOQ (valeur communiquée à titre indicatif)

TABLEAU A.18 – Concentrations et incertitudes de mesure associées (k=2) sur le site de Tolbiac

	D.P1A.R1	D.P1A.R2	D.P1B.R1	D.P1B.R2	D.P2A.R1	D.P2A.R2	D.P2B.R1	D.P2B.R2
	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})
HCBZ	28,4 ± 2,4	25, 7 ± 2,2	26,0 ± 2,2	29,9 ± 2,5	29,6 ± 2,5	26,7 ± 2,2	29,0 ± 2,4	29,1 ± 2,4
ZLP-4A	6,62 ± 0,80	6,23 ± 0,75	6,48 ± 0,78	6,71 ± 0,81	6,68 ± 0,80	6,06 ± 0,73	6,21 ± 0,75	6,40 ± 0,77
BZL	2,324 ± 0,085	2,469 ± 0,090	2,480 ± 0,091	2,588 ± 0,095	2,594 ± 0,095	2,492 ± 0,091	2,467 ± 0,090	2,489 ± 0,091
CBZ	20,30 ± 0,42	20,09 ± 0,41	20,26 ± 0,42	20,03 ± 0,41	20,01 ± 0,41	20,13 ± 0,41	19,95 ± 0,41	20,24 ± 0,42
CIT	2,77 ± 0,16	3,07 ± 0,18	2,91 ± 0,17	2,90 ± 0,17	2,78 ± 0,16	2,93 ± 0,17	2,87 ± 0,16	2,89 ± 0,17
COC	0,14 ± 0,17	0,15 ± 0,17	0,16 ± 0,18	0,14 ± 0,16	0,14 ± 0,17	0,14 ± 0,17	0,13 ± 0,15	0,13 ± 0,15
COD	8,50 ± 0,35	9,32 ± 0,38	8,98 ± 0,37	8,91 ± 0,36	9,03 ± 0,37	8,77 ± 0,36	8,87 ± 0,36	8,71 ± 0,36
DCIT	1,96 ± 0,19	2,47 ± 0,24	2,21 ± 0,21	2,10 ± 0,20	2,07 ± 0,20	2,21 ± 0,21	2,20 ± 0,21	2,11 ± 0,20
DZP	0,254 ± 0,044	0,237 ± 0,041	0,231 ± 0,040	0,236 ± 0,040	0,232 ± 0,040	0,247 ± 0,042	0,238 ± 0,041	0,239 ± 0,041
DCF	21,23 ± 0,55	21,28 ± 0,55	21,56 ± 0,56	21,60 ± 0,56	21,47 ± 0,56	20,96 ± 0,55	21,11 ± 0,55	21,65 ± 0,56
EDDP	1,615 ± 0,039	1,623 ± 0,039	1,627 ± 0,039	1,623 ± 0,039	1,580 ± 0,038	1,632 ± 0,039	1,626 ± 0,039	1,639 ± 0,044
FLX	0,82 ± 0,47	0,75 ± 0,43	0,83 ± 0,48	0,81 ± 0,46	0,84 ± 0,48	0,80 ± 0,46	0,76 ± 0,44	0,76 ± 0,43
GBP	168 ± 14	165 ± 14	171 ± 15	169 ± 15	163 ± 14	160 ± 14	159 ± 14	158 ± 14
MDMA	0,407 ± 019	0,399 ± 0,018	0,411 ± 0,019	0,409 ± 0,019	0,402 ± 0,018	0,409 ± 0,019	0,399 ± 0,018	0,401 ± 0,018
MMT	1,59 ± 0,12	1,59 ± 0,12	1,63 ± 0,12	1,61 ± 0,12	1,62 ± 0,12	1,63 ± 0,12	1,60 ± 0,12	1,60 ± 0,12
MTD	0,498 ± 0,016	0,515 ± 0,017	0,527 ± 0,017	0,506 ± 0,017	0,495 ± 0,016	0,497 ± 0,016	0,528 ± 0,018	0,508 ± 0,017
NCOD	1,52 ± 0,12	1,44 ± 0,12	1,41 ± 0,11	1,47 ± 0,12	1,47 ± 0,12	1,30 ± 0,11	1,38 ± 0,11	1,37 ± 0,11
NDZ	0,894 ± 0,031	0,888 ± 0,030	0,894 ± 0,031	0,889 ± 0,031	0,867 ± 0,030	0,887 ± 0,030	0,891 ± 0,031	0,880 ± 0,030
DVLF	25,8 ± 1,3	26,4 ± 1,3	26,9 ± 1,3	25,3 ± 1,2	25,8 ± 1,3	25,3 ± 1,2	24,3 ± 1,2	24,9 ± 1,2
OXA	36,3 ± 4,1	32,3 ± 3,7	34,5 ± 3,9	35,9 ± 4,1	35,7 ± 4,1	34,5 ± 3,9	34,1 ± 3,9	35,6 ± 4,0
PZP	0,387 ± 0,027	0,393 ± 0,027	0,397 ± 0,027	0,370 ± 0,025	0,365 ± 0,025	0,379 ± 0,026	0,376 ± 0,026	0,380 ± 0,026
TTZ	0,466 ± 0,083	0,84 ± 0,14	0,433 ± 0,071	0,509 ± 0,083	0,463 ± 0,076	0,90 ± 0,15	ND	1,20 ± 0,20
TMD	57,66 ± 1,71	59,04 ± 1,75	58,21 ± 1,73	57,80 ± 1,72	57,98 ± 1,72	58,02 ± 1,72	57,99 ± 1,72	58,05 ± 1,72
VLF	14,99 ± 0,32	15,22 ± 0,33	15,27 ± 0,33	15,01 ± 0,32	15,09 ± 0,33	14,90 ± 0,32	15,00 ± 0,32	14,86 ± 0,32
ZLP	0,137 ± 0,044	0,123 ± 0,039	0,124 ± 0,040	0,127 ± 0,041	0,121 ± 0,039	0,125 ± 0,040	0,123 ± 0,040	0,132 ± 0,042

G.xxx.xx : rive gauche / D.xxx.xx : rive droite
x.P1x.xx : préleveur 1 / x.P2x.xx : préleveur 2
x.xxA.xx : prélèvement A / x.xxB.xx : prélèvement B
x.xxx.R1 : répétition 1 / x.xxx.R2 : répétition 2
ND : Non Détécté
xx : <LOQ (valeur communiquée à titre indicatif)

TABLEAU A.18 – Concentrations et incertitudes de mesure associées (k=2) sur le site de Tolbiac (suite)

Echantillons prélevés sur les sites de l'Ile de la Cité et de Garigliano le 17 septembre 2013 :

	Ile de la Cité	Garigliano
	C ± U (ng.L^{-1})	C ± U (ng.L^{-1})
HCBZ	32,49 ± 2,73	30,19 ± 2,54
ZLP-4A	8,26 ± 0,99	6,77 ± 0,82
BZL	1,578 ± 0,058	2,109 ± 0,077
CBZ	22,56 ± 0,46	21,28 ± 0,44
CIT	3,69 ± 0,21	3,31 ± 0,19
COC	0,17 ± 0,20	0,23 ± 0,27
COD	8,67 ± 0,35	7,89 ± 0,32
DCIT	2,69 ± 0,26	2,46 ± 0,24
DZP	0,228 ± 0,039	0,227 ± 0,039
DCF	30,06 ± 0,78	26,87 ± 0,70
EDDP	1,852 ± 0,044	1,712 ± 0,041
FLX	0,86 ± 0,49	0,81 ± 0,46
GBP	182 ± 16	168 ± 14
MDMA	0,418 ± 0,019	0,450 ± 0,021
MMT	1,79 ± 0,13	1,63 ± 0,12
MTD	0,562 ± 0,019	0,546 ± 0,018
NCOD	1,41 ± 0,11	1,47 ± 0,12
NDZ	0,957 ± 0,033	0,898 ± 0,031
DVLF	30,6 ± 1,5	27,3 ± 1,3
OXA	46,3 ± 5,2	40,7 ± 4,6
PZP	0,460 ± 0,032	0,427 ± 0,029
TTZ	1,85 ± 0,30	2,06 ± 0,34
TMD	65,0 ± 1,9	60,5 ± 1,8
VLF	17,26 ± 0,37	16,17 ± 0,35
ZLP	0,152 ± 0,049	0,161 ± 0,052

xx: <LOQ (communiquée à titre indicatif)

TABLEAU A.19 – Concentrations et incertitudes de mesure associées (k=2) sur les sites de l'île de la Cité et du pont du Garigliano