



HAL
open science

Développement méthodologique pour l'analyse d'une large gamme de composés dans le milieu aquatiques

Daniel, Siao-Loung Leonco

► **To cite this version:**

Daniel, Siao-Loung Leonco. Développement méthodologique pour l'analyse d'une large gamme de composés dans le milieu aquatiques. Autre. Université de Bordeaux, 2017. Français. NNT : 2017BORD0809 . tel-01755716

HAL Id: tel-01755716

<https://theses.hal.science/tel-01755716v1>

Submitted on 30 Mar 2018

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.

THÈSE présentée
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX I

Ecole Doctorale des Sciences Chimiques
Spécialité : Chimie analytique et environnement

Par Daniel LEONCO

**Développement méthodologique pour l'analyse d'une large
gamme de composés dans les milieux aquatiques**

Sous la direction de : **Pr. Hélène BUDZINSKI**
(co-directeur : **Dr. François LESTREMAU**)

Thèse soutenue à l'INERIS, le 04 décembre 2017

Membres du jury :

| | | |
|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Pr. LAPREVOTE, Olivier | Université Paris Descartes | Rapporteur |
| Dr. VULLIET, Emmanuelle | ISA | Rapporteur |
| Dr. DEVIER, Marie-Hélène | Université de Bordeaux I | Examineur |
| Pr. SCHMITTER, Jean-Marie | Université de Bordeaux | Président du jury |
| Pr. PICHON, Valérie | ESPCI | Examineur |
| Dr. STAUB, Pierre-François | AFB | Examineur |

Titre : Développement méthodologique pour l'analyse d'une large gamme de composés dans les milieux aquatiques

Résumé : Il est maintenant avéré que les contaminants présents dans les milieux aquatiques peuvent être toxiques à l'état de traces voire d'ultra traces. Il est donc important de développer des méthodes d'analyse performantes et sensibles pouvant atteindre ces niveaux de concentration. Dans cette optique, les techniques chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse (GC-MS et LC-MS/MS) sont généralement utilisées pour l'analyse des polluants organiques.

Les composés présents dans les milieux aquatiques possèdent des propriétés physico-chimiques très variées, d'apolaires à très polaires. Ainsi, développer une analyse simultanée pour toutes ces molécules représente un challenge analytique.

Dans ce travail de thèse, plusieurs étapes du processus analytique ont été évaluées : la préparation de l'échantillon par extraction sur phase solide (SPE), la séparation par chromatographie et la détection par spectrométrie de masse.

Une liste de composés modèles couramment retrouvés dans les milieux aquatiques a été établie pour conduire ces essais. Les méthodes d'extraction en phase solide hors ligne et en ligne ont été développées dans une optique d'analyse multirésidus à un niveau de traces. Les méthodes chromatographiques, gazeuse et liquide, couplées à la spectrométrie de masse ont été étudiées pour favoriser une analyse exhaustive et sensible

La dernière partie a consisté à appliquer les méthodes développées pour une approche d'analyse non ciblée.

Mots clés : SPE hors ligne, SPE en ligne, LC-QqQ, LC-QTOF, GC-MS

Title: Methodological development for the analysis of a wide range of compounds in the aquatic environments

Abstract: It is now widely recognized that contaminants present in aquatic environments can be toxic at traces or even ultra-traces level. Therefore, it is important to develop efficient and sensitive analytical methods to reach these levels of concentration. In that respect, chromatographic techniques coupled to mass spectrometry (GC-MS and LC-MS / MS) are commonly used for the analysis of organic pollutants.

The substances encountered in aquatic environments display a large range of physico-chemical properties, from apolar to very polar. Thus, developing a simultaneous analysis for all these molecules represents an analytical challenge.

In this PhD work, several steps of the analytical process have been investigated: sample preparation by solid phase extraction (SPE), chromatographic separation and the detection by mass spectrometry.

A list of model compounds commonly determined in aquatic environments was established to conduct the tests. Solid phase extraction methods, offline and online, were developed in a multiresidue analysis aim at traces level. Chromatographic methods, gaseous and liquid, coupled to mass spectrometry were studied to obtain an exhaustive and sensitive analysis.

The last part consisted to apply the developed methods for a non-targeted analysis approach.

Keywords : Offline SPE, Online SPE, LC-QqQ, LC-QTOF, GC-MS

Unité de recherche

INERIS-DRC/CARA/NOVA Rue Jacques Taffanel, 60550 Verneuil-en-Halatte

Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805 CNRS, LPTC, 351, Cours de la
Libération, 33405 Talence, France

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier mon co-encadrant de thèse François LESTREMAU pour m'avoir donné la chance de réaliser une thèse. Ton soutien pendant ces trois années a été énorme. Tes conseils chromatographiques, rédactionnels et professionnels m'ont été d'une grande aide. Tu as été d'une patience remarquable. De plus, je n'oublierai jamais nos debriefs des championnats du week-end, le lundi matin, plus particulièrement sur la première League et Manchester United. Mais bon, après trois années de thèse, je ne sais toujours pas quelle équipe tu supportes. Plus sérieusement, je tiens également à le remercier pour avoir également proposé mon profil à Hélène BUDZINKSI, ma directrice de thèse. Auprès d'elle, j'ai appris la rigueur indispensable pour effectuer ce type de métier. Ses conseils m'ont également été d'une grande aide et ce, malgré la distance. Je tiens à remercier également Marie-Hélène DEVIER pour tous ses conseils, notamment au niveau rédactionnel et expression. Un grand merci à vous 3 pour m'avoir accompagné et pour m'avoir accordé votre précieux temps.

Durant cette thèse, mon temps a été partagé entre le Laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'environnement (LPTC) de l'Université de Bordeaux I et le laboratoire NOVA/RESA de l'INERIS. Ainsi, j'ai pu y rencontrer des personnes formidables.

Team LPTCienne

Je tiens donc à remercier Patrick PARDON pour son efficacité et sa disponibilité. Dès le premier jour, il a su me mettre à l'aise, m'a fait partager son expérience. Si j'ai pu optimiser au maximum le temps passé au LPTC, ce fut grâce à toi. Avec Manu, tu formes un duo de choc et je garderai toujours en mémoire la vitesse à laquelle vous réfléchissiez à ma problématique SPE en ligne :).

Je n'oublie pas de remercier également Karine, Maylis, Sylvie, Pierre, Lucas & Thomas (team glypho), Céline, Nathalie, Laura, Pierre, Delphine et Julie pour leur accueil et leur disponibilité.

Parmi les thésards, je remercie également Caro S., Mathilde, Laurine, Caro GP., Vincent, Laura F., Justine et Manon.

Sans oublier mes compagnons de bureau (Emilie, Clotilde, Sarah) et les stagiaires (Tony, Florian, Claire, Charlotte et Alexandre (FCGB ;)).

Team INERISsienne

Je tiens à remercier le personnel des laboratoires RESA & NOVA pour leur accueil et la bonne ambiance au quotidien. Claudine, Jérôme (le marseillais) et Hervé (le stéphanois) ont été les premiers à m'accueillir dans les bureaux et à me supporter. Je remercie Faustina, notamment pour sa patience et ses histoires avec ses enfants, (on était tous comme ça à cet âge). Merci à Vincent, Jean-Pierre, Halina, Nico, Farid, Yohann, Sylvain et Elise. Ahmad (l'homme qui fait des crochets au ralenti à vitesse réelle au foot) et Serguei (pas si costaud que ça vu que tu nages encore dans tes t-shirts) : merci pour l'ambiance.

Un grand merci également aux thésards INERIS : Hélène & Deep² pour leur soutien permanent durant ces 3 années de thèses (I live with love and fresh water), Clémentine (la personnalité ;)), Audrey, Adrien (Mr BBQ), Yunjiang et Anitha pour leur soutien, mais surtout pour les sorties, les soirées apéros et BBQ.

Enfin, je tiens à remercier, Morgane, Quentin « Mr caméra », Zakaria « Benzema KB9 » et Fanny « Fanfan » (notamment pour les gros fou rire lors des pauses), Maxime (pour son aide précieuse), YasminE et Aude. Merci aussi à Sacha pour : les soirées foot, pizzas et les matchs au stade de France et du mercredi.

Et comme une thèse, c'est aussi savoir s'intégrer dans la vie de l'entreprise, je tiens à remercier Claudine, Laurence, Patrick, Alex et Baya pour leurs aides en dehors de ce travail.

Team football

Merci également à la team du foot : Hélène (et oui tu es partout) pour tous les matchs joués et surtout le dernier tournoi ;), Thierry (impossible d'oublier ton humour), Fabio (je connais ton point faible), Alexandra « Alex la parisienne ou Zlatan », Maxime, Jérôme, René, Yannick, Farid, Philippes...

Je tiens à remercier également mes amis de longue date qui ont toujours été là pour moi : Inès, Rosane, Lauriane et Frédéric.

Enfin, un grand merci à ma famille et plus particulièrement mes parents et mon frère pour leur soutien sans faille et pour m'avoir permis d'atteindre mes objectifs !

Table des matières

| | |
|--|------------|
| INTRODUCTION GENERALE | 22 |
| CHAPITRE 1 : CONTEXTE DE L'ETUDE | 24 |
| 1 Sources de pollution | 26 |
| 1.1 Eaux de pluie | 28 |
| 1.2 Stations d'épuration (STEP) | 29 |
| 2 Activités humaines à l'origine de cette pollution | 31 |
| 2.1 Activités urbaines et/ou domestiques | 31 |
| 2.2 Activités agricoles | 34 |
| 2.3 Activités industrielles | 38 |
| 2.4 Activités hospitalières | 40 |
| 2.5 Bilan | 41 |
| 3 Liens avec des études toxicologiques | 43 |
| 4 Programme de surveillance des polluants dans les milieux aquatiques | 45 |
| 4.1 Directive cadre sur l'eau (DCE) | 45 |
| 4.2 Etude prospective 2012 et arrêté du 7 août 2015 | 46 |
| 4.3 Evolution des programmes de surveillance | 48 |
| 5 Etat de l'art des techniques analytiques de screening | 49 |
| 5.1 Traitement de l'échantillon | 50 |
| 5.2 Séparation | 64 |
| 5.3 Détection | 74 |
| 5.4 Traitements de données en analyse non ciblée | 76 |
| 6 Bilan et objectifs du travail de thèse | 77 |
| CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES | 79 |
| 1 Choix de composés modèles | 81 |
| 1.1 Démarche de sélection | 81 |
| 1.2 Liste finale | 89 |
| 1.3 Propriétés physico-chimiques des polluants organiques environnementaux | 90 |
| 1.4 Log K_{ow} et log D | 91 |
| 1.5 Conséquences du log D pour l'analyse environnementale | 92 |
| 2 Matrices étudiées | 95 |
| 3 Préparation de l'échantillon par extraction sur phase solide (SPE) | 96 |
| 3.1 SPE hors ligne | 97 |
| 3.2 SPE en ligne | 115 |
| 4 Analyses par chromatographies en phase gazeuse et en phase liquide couplées à la spectrométrie de masse | 123 |
| 4.1 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) | 123 |

| | | |
|---|---|----------------|
| 4.2 | Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) | 125 |
| 5 | Expressions des résultats | 141 |
| 5.1 | Détermination des rendements par SPE hors ligne | 141 |
| 5.2 | Détermination des sensibilités de l'analyse | 141 |
| 5.3 | Détermination de la répétabilité | 141 |
| 6 | Retraitements des données | 142 |
| 6.1 | Retraitements des données par LC-QTOF | 142 |
| 6.2 | Logiciels | 143 |
| CHAPITRE 3 : RESULTATS DES DEVELOPPEMENTS DE METHODES D'ANALYSES POUR DES APPLICATIONS ENVIRONNEMENTALES | | 145 |
| Partie 1 : Développements des méthodes d'analyse par techniques de chromatographies couplées à la spectrométrie de masse (GC-MS et LC-QqQ) | | 149 |
| 1 | Développements de méthode en GC-MS | 149 |
| 2 | Développements de méthodes en LC-QqQ | 149 |
| 2.1 | Evaluations des conditions de séparation et de détection par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-QqQ) | 149 |
| 3 | Conclusions méthodologiques en LC-QqQ et GC-MS | 168 |
| Partie 2 : Développements en SPE hors ligne | | 172 |
| 1 | Etudes préliminaires | 173 |
| 1.1 | Influence du solvant d'injection lors des étapes de SPE hors ligne | 173 |
| 1.2 | Influence de l'évaporation et de la resolubilisation des molécules lors du protocole SPE hors ligne | 176 |
| 1.3 | Conclusions méthodologiques | 179 |
| 1.4 | Etude du volume de phase sur une cartouche SPE Oasis HLB | 180 |
| 1.5 | Volume d'extraction de l'échantillon sur une cartouche Oasis HLB | 182 |
| 2 | Développements en SPE hors ligne : synthèse des résultats de la Publication n°1 | 186 |
| 3 | Influence de l'ajout d'un agent de chélation (cartouches Oasis HLB et multicouche) | 188 |
| 4 | Sensibilité en LC-QqQ pour les cartouches Oasis HLB et multicouche | 193 |
| Publication n°1 : <i>Evaluation of offline solid phase extraction approaches for the pre-concentration of a wide range of environmental pollutants in water matrices</i> | | 195 |
| Partie 3 : Développements en SPE en ligne | | 230 |
| 1 | Limites de quantification de la méthode en injection directe | 232 |
| 2 | Développements préliminaires de la méthode en SPE en ligne | 232 |
| 2.1 | Analyse avec une cartouche Oasis HLB « commerciale » (3*20 mm ; 45 mg) | 232 |
| 2.2 | Cartouche Oasis HLB spark | 235 |
| 2.3 | Comparaison des cartouches PLRP et Oasis HLB « commerciale » (3*20 mm) | 236 |
| 2.4 | Cartouches « à façon » | 242 |
| 2.5 | Conclusion méthodologique | 248 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 3 | Développements de méthodes SPE en ligne : synthèse des résultats de la Publication n°2 | 250 |
| | <i>Publication n°2: Development of an on-line Solid Phase Extraction / liquid chromatography - mass spectrometry method for the detection of a wide range of environmental pollutants in surface waters</i> | 251 |
| | Partie 4 : Comparaison des performances des méthodes développées en SPE hors ligne et SPE en ligne | 281 |
| 1 | Sensibilité | 281 |
| 2 | Comparaison des performances sur la cartouche Oasis HLB entre l'eau milliQ et de rivière (Oise) | 286 |
| 3 | Comparaison des performances sur la cartouche multicouche entre l'eau milliQ et de rivière (Oise) | 288 |
| 4 | Bilan de la comparaison des méthodes en SPE hors ligne et en ligne | 291 |
| | CHAPITRE 4 : DEVELOPPEMENTS EN LC-QTOF ET APPLICATION DES METHODES A DE L'ANALYSE NON CIBLEE | 292 |
| | Partie 1 : Participation à l'essai inter-laboratoire NORMAN | 294 |
| 1 | Analyse de la solution étalon fournie par NORMAN | 296 |
| 2 | Extraction des eaux de rivière par SPE hors ligne et analyse par LC/QTOF | 300 |
| | 2.1 Extraction de l'extrait de rivière non dopée | 300 |
| | 2.2 Extraction de l'extrait de rivière dopée | 301 |
| 3 | Bilan des essais | 304 |
| | Partie 2 : Développements chromatographiques en LC-QTOF | 305 |
| 1 | Essais de plusieurs colonnes et conditions chromatographiques | 306 |
| | 1.2 Bilan des développements chromatographiques en LC-QTOF | 314 |
| | 1.3 Performances de la méthode en LC/QTOF | 314 |
| 2 | Application d'analyse en mode « suspect » d'échantillons issus de matrices réelles | 318 |
| | 2.1 Retraitement des données | 319 |
| | SYNTHESE SUR LA MISE EN ŒUVRE METHODOLOGIQUE (PREPARATION D'ECHANTILLON ET SEPARATION/DETECTION) DANS LE CAS D'APPROCHES D'ANALYSES NON-CIBLEES | 329 |
| | CONCLUSION GENERALE | 332 |
| | BIBLIOGRAPHIES | 336 |
| | ANNEXES | 352 |

Liste des tableaux

| | |
|--|-----|
| Tableau 1 : Pesticides dans les eaux de pluie en Bretagne (Miquel 2003) | 29 |
| Tableau 2 : Niveaux de contamination d'eaux de rivière pour différentes familles de molécules | 44 |
| Tableau 3 : Substances prioritaires de la DCE (DCE 2013) | 46 |
| Tableau 4: Synthèse des différentes méthodes d'extraction SPE hors ligne dans les matrices aqueuses pour des analyses multirésidus | 53 |
| Tableau 5 : Etudes ayant comparées différentes cartouches SPE à phase inverse | 55 |
| Tableau 6: Synthèse des différentes techniques d'extraction SPE en ligne dans les matrices aqueuses (n.d : non déterminé) | 61 |
| Tableau 7 : Synthèse de différentes colonnes C18 utilisées en chromatographie en phase liquide (LC) | 66 |
| Tableau 8: Phases mobiles utilisées lors des différentes expériences par Nurmi & Pellinen (2011) | 69 |
| Tableau 9 : Phases mobiles utilisées lors des différentes expériences par Reemtsma et al. (2013a) | 69 |
| Tableau 10 : Synthèse de différentes colonnes HILIC utilisées en chromatographie en phase liquide (LC) | 71 |
| Tableau 11 : Synthèse d'exemple de différentes colonnes utilisées en chromatographie en phase gazeuse (GC) | 73 |
| Tableau 12 : Formules chimiques et noms des principaux PFCA retrouvés dans l'environnement (ANSES 2011) | 85 |
| Tableau 13 : Formules chimiques et noms des principaux PFAS retrouvés dans l'environnement (ANSES 2011) | 85 |
| Tableau 14 : Nomenclature et structure de six alkylphénols retrouvés fréquemment dans l'environnement (Bergé 2012) | 88 |
| Tableau 15 : Avantages et inconvénients de la SPE hors ligne et en ligne | 96 |
| Tableau 16 : Paramètres SPE évalués lors de ces travaux | 103 |
| Tableau 17 : Protocole d'extraction sur la cartouche Oasis HLB à pH acidifié avec l'automate SPE | 105 |
| Tableau 18 : Protocole d'extraction sur les cartouches Oasis MAX et WAX avec l'automate SPE | 108 |
| Tableau 19 : Protocole d'extraction sur les cartouches Oasis MCX et WCX avec l'automate SPE | 110 |
| Tableau 20 : Protocole d'extraction avec les cartouches en série Oasis HLB + MCX avec l'automate SPE | 112 |
| Tableau 21 : Protocole d'extraction sur la cartouche multicouche avec l'automate SPE | 114 |
| Tableau 22 : Présentation des différents paramètres étudiés pour chaque cartouche utilisée dans ces travaux | 118 |
| Tableau 23 : Présentation des composés détectés par la méthode en GC-MS | 125 |
| Tableau 24 : Gradient d'élution utilisé en LC-QqQ C18 | 127 |
| Tableau 25 : Paramètres utilisés en LC-QqQ C18 | 129 |
| Tableau 26 : Composés analysés par la méthode LC-C18 | 130 |
| Tableau 27 : Gradient d'élution utilisé lors de l'analyse en mode HILIC par LC-QqQ | 131 |
| Tableau 28 : Paramètres LC-QqQ employés lors des développements en HILIC | 132 |
| Tableau 29 : composés analysés en LC-QqQ HILIC | 133 |
| Tableau 30 : Gradient d'élution utilisé pour la colonne Acclaim Trinity P1 par LC-QqQ | 134 |
| Tableau 31 : Paramètres utilisés en LC-QqQ Trinity | 135 |
| Tableau 32 : Composés analysés par la méthode LC-QqQ Trinity | 136 |
| Tableau 33 : Composés analysés lors de l'essai inter-laboratoire NORMAN | 139 |
| Tableau 34 : Présentation des différents paramètres évalués pour les analyses non ciblées en LC-QTOF 6550 ifunnel. | 140 |
| Tableau 35 : Conditions des paramètres spectrométriques du QTOF | 143 |
| Tableau 36 : Présentation des logiciels d'acquisition et de traitement de données | 144 |
| Tableau 37 : pH mesuré des différentes phases mobiles aqueuses utilisées lors des développements chromatographiques | 151 |
| Tableau 38 : Synthèse des méthodes chromatographiques pour l'analyse des composés modèles de la liste | 169 |
| Tableau 39 : Solvants de reprise avant l'analyse par chromatographie | 179 |
| Tableau 40 : LQ estimées (en ng/L) pour différentes cartouches de SPE en ligne | 243 |
| Tableau 41 : Présentation des différents composés du test NORMAN et de leurs propriétés physico-chimiques | 296 |
| Tableau 42 : Bilan des temps de rétention des composés de l'essai NORMAN analysés en C18 et en HILIC (n.d : non détectés) | 297 |
| Tableau 43 : Comparaison des différentes méthodes chromatographiques testées en LC-QTOF 6550 ifunnel | 307 |
| Tableau 44 : Paramètres chromatographiques et MS du LC-QTOF | 315 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----|
| <i>Tableau 45 : Performances instrumentales en LC-QTOF en acquisition « full scan ». Les composés non détectés sont signalés par le sigle nd. Le sigle C signifie qu'il y a eu une contamination des blancs d'eau milliQ</i> | 317 |
| <i>Tableau 46 : Critères utilisés par la recherche par « mass profiler », après une analyse MS</i> | 319 |
| <i>Tableau 47 : Critères appliqués lors de la comparaison des échantillons par rapport au blanc</i> | 320 |
| <i>Tableau 48 : Critères appliqués lors de l'identification des composés suspects</i> | 321 |
| <i>Tableau 49 : Comparaison du nombre de composés identifiés avec les 2 bases de données utilisées, sur les deux types de cartouche, en modes positif et négatif</i> | 322 |
| <i>Tableau 50 : Paramètres de source, d'acquisition et critères utilisés lors de l'analyse « target MS/MS » sur le LC-QOTF 6550 ifunnel.</i> | 323 |
| <i>Tableau 51 : Composés détectés et suspectés lorsque les échantillons ont été extraits sur la cartouches multicouche et Oasis HLB en mode positif et négatif (en italique) sur les matrices eau milliQ, d'Evian, de l'Oise et de STEP</i> | 325 |

Liste des figures

| | |
|--|-----|
| Figure 1 : Cycle de l'eau (de l'amont à l'aval) (SIEPAB) | 26 |
| Figure 2 : Présentation des différentes origines de la pollution des eaux (Empreinte H2O). | 27 |
| Figure 3 : Le marché des phytosanitaires en Europe en 2008 (Union des Industries de la Protection des Plantes 2009). | 35 |
| Figure 4 : Quantité de produits phytosanitaires par fonction et par années utilisés en France (Planetoscope) | 36 |
| Figure 5 : Répartition de l'utilisation des pesticides (en milliards de dollars et en %) du marché mondial en 2009 par catégorie de produits phytosanitaires (Union des Industries de la Protection des Plantes 2009) | 37 |
| Figure 6 : Devenir des produits phytosanitaires dans les différents compartiments de l'environnement (eau, air, sol) (Cruz 2015) | 38 |
| Figure 7 : Utilisation des produits phytosanitaires pour l'entretien des routes (Gouzy et al. 2008) | 39 |
| Figure 8 : Caractéristiques et origines des polluants provenant des effluents hospitaliers (Lachassagne 2014) | 41 |
| Figure 9 : Schéma d'une cartouche multicouche | 59 |
| Figure 10 : Application de différentes techniques de séparation (Polesello and Quevauviller 2014) | 64 |
| Figure 11 : Structure du DDT | 82 |
| Figure 12 : Structure des organophosphates | 82 |
| Figure 13: Structure de la deltaméthrine | 83 |
| Figure 14 : Structure des carbamates | 83 |
| Figure 15 : Exemple de structure d'un phénylurée (diuron) | 83 |
| Figure 16 : Structure type d'une molécule de PCB | 88 |
| Figure 17 : Présentation des différentes familles de composés sélectionnés pour ces travaux de thèse. | 90 |
| Figure 18 : Log D en fonction du pH de l'ibuprofène (Lestremau 2014). | 92 |
| Figure 19 : Chromatogramme du diclofénac obtenu avec différentes phases aqueuses et pH sur le LC-QTOF 6550 ifunnel. | 93 |
| Figure 20 : Répartition du diclofénac en fonction du pH. La courbe bleue est la forme protonée de la fonction acide, la jaune est la forme déprotonnée de la fonction acide et la rouge est la forme protonée de la fonction basique | 94 |
| Figure 21 : Acquity UPLC H-Class (Waters) couplé à un triple quadrupôle (Acquity TQ Detector, Waters) | 98 |
| Figure 22 : TRACE GC Ultra- DSQ II MS Thermo Fisher Scientific | 98 |
| Figure 23 : AutoTrace SPE Workstation, Zymark | 99 |
| Figure 24 : Etapes principales de la SPE hors ligne | 100 |
| Figure 25 : Protocole de concentration et d'évaporation pour les analyses en LC-MS/MS et GC-MS | 100 |
| Figure 26: Protocole de test pour évaluer les pertes éventuelles lors du protocole post-SPE | 101 |
| Figure 27 : Nature et propriété de la phase contenue dans une cartouche Oasis HLB | 104 |
| Figure 28 : Représentation des différentes cartouches Oasis « mix mode » utilisées en SPE hors ligne (Waters 2015) | 107 |
| Figure 29 : Système représentant les cartouches en série (Oasis HLB + Oasis MCX) | 112 |
| Figure 30 : Structure des phases Strata X-CW, Strata X-AW et Isolute ENV + | 113 |
| Figure 31 : Cartouche SPE multicouche fabriquée au laboratoire | 114 |
| Figure 32 : UHPLC 1290 couplée à un spectromètre MS/MS triple quadrupôle 6460 (Agilent technologies) | 115 |
| Figure 33 : Principe de la SPE en ligne | 116 |
| Figure 34 : Dispositif de la cartouche PLRP (holder + cartouche, Agilent) | 120 |
| Figure 35: Dispositif BGB permettant de réaliser des cartouches SPE en ligne avec des phases stationnaires « à façon » | 121 |
| Figure 36 : Représentation du sens de la phase mobile et de la cartouche multicouche | 122 |
| Figure 37 : Représentation du gradient de température du four | 124 |
| Figure 38 : LC (1290) couplée à un QTOF (6550) ifunnel (LC-QTOF), Agilent Technology | 136 |
| Figure 39 : Illustration de l'importance de la résolution en masse entre les différents analyseurs (Spectrométrie de masse). | 137 |
| Figure 40 : Temps de rétention de chaque composé dans différentes conditions chromatographiques sur la colonne C18 avec un LC-QqQ en ESI (+) et ESI (-) | 153 |
| Figure 41 : Chromatogramme du lincomycine lorsque l'analyse a été réalisée à pH non ajusté (bas), acide (milieu) et avec 10 mM d'acétate d'ammonium (haut) | 154 |

Liste des figures

| | |
|--|-----|
| Figure 42 : Chromatogrammes de l'aminotriazole (haut) et de l'acide monochloroacétique (bas) sur la colonne Ascentis® Express HILIC sur le LC-QqQ en ESI (+) et ESI (-) | 155 |
| Figure 43 : Chromatogrammes du clotrimazole (haut) et de la carbamazépine (bas) obtenus sur une colonne Trinity | 157 |
| Figure 44 : Chromatogrammes de l'acide monochloroacétique avec une colonne C18 (haut) et une colonne Trinity (bas) | 157 |
| Figure 45 : Chromatogrammes de l'aminotriazole avec une colonne C18 (haut) et une colonne Trinity (bas) | 158 |
| Figure 46 : Chromatogrammes du glyphosate retenu avec une colonne Trinity (gauche) et C18 (droite) | 158 |
| Figure 47 : Chromatogramme (gauche) du clothianidine avec une colonne C18 (haut) et une colonne Trinity (bas) et sa répartition en fonction du pH | 159 |
| Figure 48 : Chromatogramme de l'acide acétylsalicylique avec la colonne C18 en ESI (-) obtenu avec l'acétate d'ammonium (haut), en milieu acide (milieu) et sans ajout (bas) à gauche. Chromatogramme de l'acide acétylsalicylique sur la colonne trinity en ESI (-) à droite. | 159 |
| Figure 49 : Influence de l'utilisation comme solvant du MeOH ou de l'ACN avec la colonne Trinity sur l'acide acétylsalicylique (haut) et sur l'acide monochloroacétique (bas) | 160 |
| Figure 50 : Présentation de quelques intensités de hauteur de signal avec différentes phases mobiles et solvants en mode positif sur la colonne C18 | 161 |
| Figure 51 : Présentation de quelques intensités de signal avec différentes phases mobiles et solvants en mode négatif sur la colonne C18 | 162 |
| Figure 52 : Présentation de quelques intensités de signal avec différents solvants organiques en mode ESI positif sur la colonne Trinity | 163 |
| Figure 53 : Bilan des temps de rétention (min) obtenus avec les différentes colonnes et phases mobiles. Les 4 premières barres représentent les rTs des composés analysés sur une colonne C18 avec diverses phases mobiles. | 167 |
| Figure 54 : Représentation des composés analysés en GC-MS et/ou LC-QqQ | 168 |
| Figure 55 : Protocole de reconcentration et d'évaporation pour les analyses en LC-MS/MS et GC-MS | 173 |
| Figure 56 : Influence de la nature du solvant d'injection (H ₂ O/MeOH et H ₂ O/ACN) pour l'analyse de l'ampicilline (rT= 4,3), l'hydroxy ibuprofène (rT= 4,9) et le trichlorfon (rT=5,5) | 174 |
| Figure 57 : Influence de la nature du solvant d'injection (H ₂ O/MeOH et H ₂ O/ACN) pour l'analyse du paracétamol (rT=2,7) et du bromoxynil (rT=4,4) | 174 |
| Figure 58 : Analyse du paracétamol et du métronidazole par C18 avec plusieurs mélanges de solvant d'injection. | 175 |
| Figure 59 : Chromatogrammes de paracétamol (gauche) et du métronidazole (droite) dans l'ACN (100%) sur une colonne HILIC. | 176 |
| Figure 60 : Recouvrements des aires des composés en GC-MS suite à l'étape d'évaporation à sec (n=3) | 177 |
| Figure 61 : Etudes des pertes lors de la phase de reconcentration des composés analysés en LC-QqQ sur une colonne HILIC (n=3) | 178 |
| Figure 62 : Recouvrements des composés étudiés en LC-QqQ sur une colonne C18 (n=3) | 179 |
| Figure 63 : Rendements d'extraction de 500 mL d'eau milliQ des composés à 1 µg/L sur des cartouches Oasis HLB (60 et 200 mg) pour les composés analysés sur une colonne C18 (n= 3) | 180 |
| Figure 64 : Rendements d'extraction de 500 mL d'eau milliQ sur des cartouches Oasis HLB (60 et 200 mg) pour les composés analysés sur une colonne HILIC (n= 3) | 181 |
| Figure 65 : Rendements d'extraction de 500 mL d'eau milliQ sur des cartouches Oasis HLB (60 et 200 mg) pour les composés analysés en GC | 182 |
| Figure 66 : Rendements d'extraction de volumes d'eau milliQ de 50, 100, 200 et 500 mL sur des cartouches Oasis HLB (60 mg) pour les composés analysés sur une colonne C18 (n=3) | 183 |
| Figure 67 : Rendements d'extraction des composés pour des volumes d'eau milliQ de 50, 100, 200 et 500 mL sur des cartouches Oasis HLB (60 mg) pour les composés analysés sur une colonne HILIC (n=3) | 184 |
| Figure 68 : Rendements d'extraction de volumes d'eau milliQ de 50, 100, 200 et 500 mL sur des cartouches Oasis HLB (60 mg) pour les composés analysés en GC-MS (n=3) | 184 |
| Figure 69 : Extraction des composés dans l'eau milliQ, d'Evian et de l'Oise sur les cartouches Oasis HLB et multicouche en présence d'EDTA, pour les composés modèles analysés en C18 et HILIC | 190 |

Liste des figures

| | |
|--|-----|
| Figure 70 : Sensibilités des méthodes LC-QqQ en SPE hors ligne sur les matrices milliQ et rivière avec les cartouches Oasis HLB et multicouche | 194 |
| Figure 71 : Chromatogrammes obtenus pour l'acétamipride (gauche) et le lincomycine (droite) par analyse SPE en ligne/LC/QqQ en mode MRM | 233 |
| Figure 72 : Comparaison des chromatogrammes de l'hydroxyde ibuprofène à pH = 3 (bas) et à pH non ajusté (haut) | 233 |
| Figure 73 : Comparaison des chromatogrammes du trichlorfon à pH non ajusté (haut) et pH = 3 (bas). | 234 |
| Figure 74 : Comparaison des chromatogrammes du lincomycine à pH non ajusté (en haut à gauche) ; pH = 3 (au milieu à gauche) et à pH = 2 (en bas à gauche). Modélisation des courbes de pKa du lincomycine (droite) (source : chemaxon) | 234 |
| Figure 75 : Comparaison entre l'acétamipride (gauche), le paracétamol (milieu) et l'hydroxyde ibuprofène (droite) à pH = 3, avec la cartouche HLB « commerciale » (haut) et la cartouche HLB spark (bas) | 236 |
| Figure 76 : Test de linéarité de la réponse du paracétamol, du clothianidine et de l'estrone | 238 |
| Figure 77 : Limites de quantification des composés étudiés pour les cartouches Oasis HLB « commerciale » et PLRP | 239 |
| Figure 78 : Aire en fonction des volumes injectés pour le paracétamol, l'ampicilline et le pyrimiphos pour les cartouches PLRP et Oasis HLB « commerciales » | 240 |
| Figure 79 : Aires en fonction des volumes injectés du PFDoA pour les cartouches PLRP et Oasis HLB « commerciales » | 240 |
| Figure 80 : Réponse pseudo-linéaire de l'octinoxate et du bisphénol A | 241 |
| Figure 81 : Comparaison des volumes de fuites estimés pour les cartouches HLB et PLRP pour chaque composé | 242 |
| Figure 82 : Volume de fuite de l'estrone sur la cartouche Oasis HLB « à façon » | 245 |
| Figure 83 : Volume de fuite (μL injecté) estimé des composés sur la cartouche Oasis HLB « à façon » | 246 |
| Figure 84 : Représentation de l'aire en fonction du volume injecté sur la cartouche Oasis HLB « commerciale » (gauche) et « à façon » (droite) pour l'oxazépam | 246 |
| Figure 85 : Volumes de fuite estimés des composés sur la cartouche multicouche | 247 |
| Figure 86 : Extraction du fluoroxypyrr-meptyl sur une cartouche multicouche (gauche) et Oasis HLB « à façon » (droite) | 247 |
| Figure 87 : Volumes de fuite du PFOS et du PFDoA obtenus sur la cartouche multicouche | 248 |
| Figure 88 : Comparaison des sensibilités obtenues sur la cartouche multicouche en SPE hors ligne et en ligne sur l'eau de l'Oise sur les cartouches Oasis HLB et multicouche | 284 |
| Figure 89 : comparaison des chromatogrammes obtenus en SPE hors ligne et en ligne | 285 |
| Figure 90 : Représentation des facteurs (F) obtenus entre la SPE hors ligne et en ligne sur la cartouche Oasis HLB entre les LQ estimées pour l'eau de MilliQ et l'eau de rivière. | 286 |
| Figure 91 : Facteur entre les sensibilités obtenues entre l'eau milliQ et l'eau de l'Oise pour les analyses par SPE hors ligne et en ligne avec la cartouche Oasis HLB | 287 |
| Figure 92 : Représentation des facteurs F entre la SPE hors ligne et en ligne sur la cartouche multicouche entre les LQ estimées pour l'eau de MilliQ et l'eau de rivière. | 289 |
| Figure 93 : Facteur entre les sensibilités obtenues entre l'eau milliQ et l'Oise pour la SPE hors ligne et en ligne sur la cartouche multicouche | 290 |
| Figure 94 : Représentation du nombre de composés détectés pour la solution étalon par les 15 laboratoires. (n.r : les résultats n'ont pas été reportés pour cette partie). | 299 |
| Figure 95 : Représentation du pourcentage de composés retrouvés par les laboratoires participants dans les rivières non dopées. (n.r : l'analyse n'a pas été effectuée) | 300 |
| Figure 96 : Représentation du pourcentage de composés retrouvés par les laboratoires participants dans l'eau de rivière dopée (n.r : résultats non reportés) | 302 |
| Figure 97 : Représentation des aires des composés obtenues pour l'essai NORMAN, avec différentes cartouches d'extraction analysées avec une colonne C18 en LC-QTOF. | 302 |
| Figure 98 : Exemples de représentation des aires des composés obtenues pour l'essais NORMAN avec différentes cartouches d'extraction analysées avec une colonne HILIC | 303 |
| Figure 99 : Comparaison des facteurs de rétention (K) des composés étudiés selon les méthodes chromatographiques utilisées en LC-QTOF | 309 |

Liste des figures

| | |
|---|-----|
| <i>Figure 100: Comparaison de quelques intensités des pics de différents composés en mode ESI positif et ESI négatif, pour les méthodes interne, Agilent, mixtes interne 1 et mixte interne 2.</i> | 311 |
| <i>Figure 101: Comparaison des pics chromatographiques de la carbamazépine dans les différentes méthodes utilisées (noir : méthode interne, violet : méthode Agilent, orange : méthode mixte à 10mM d'Acétate d'Ammonium, vert : méthode mixte avec 1mM d'Acétate d'Ammonium)</i> | 311 |
| <i>Figure 102: Comparaison des pics chromatographiques de l'asulame dans les différentes méthodes utilisées (vert : méthode interne, rouge : méthode Agilent, rose : méthode interne mixte 1 à 10mM d'Acétate d'Ammonium, marron : méthode interne mixte 2 avec 1mM d'Acétate d'Ammonium)</i> | 312 |
| <i>Figure 103 : Spectre de masse représentant le pic de l'adduit sodium par rapport au pic protoné pour une concentration à 1mM en Acétate d'Ammonium (à gauche) et 10mM en Acétate d'Ammonium (à droite) pour l'asulam (LC-QTOF fullscan ESI+)</i> | 313 |
| <i>Figure 104 : chromatogrammes du lincomycine utilisant la méthode employant 1 mM d'acétate d'ammonium/ MeOH sur la colonne Agilent (haut) et la méthode employé 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH sur la colonne Kinetex (bas) en mode « full scan »</i> | 314 |
| <i>Figure 105 : Chromatogrammes de la venlafaxine utilisant la méthode employant 1 mM d'acétate d'ammonium/ MeOH sur la colonne Agilent (haut) et la méthode employé 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH sur la colonne Kinétex (bas) en mode « full scan »</i> | 314 |
| <i>Figure 106 : Représentation du nombre de composés en fonction des LQ en quantité injectée (pg, pour 5 µL injectés en LC-QTOF en mode ESI (+) et ESI (-) en acquisition « full scan »</i> | 316 |
| <i>Figure 107 : Comparaison des blancs d'eau milliQ et des échantillons par « mass profiler »</i> | 319 |
| <i>Figure 108 : représentation des composés après la soustraction du blanc dans les échantillons de STEP en ESI (+) (extrait du logiciel mass profiler)</i> | 321 |
| <i>Figure 109 : Identifications des composés détectés de l'analyse en mode MS par « Mass Profiler »</i> | 322 |
| <i>Figure 110 : Workflow pour la préparation de l'échantillon dans une approche d'analyse non-ciblée</i> | 330 |
| <i>Figure 111: Workflow pour la séparation et détection (LC-HRMS et GC-MS) d'un extrait dans une approche d'analyse non-ciblée</i> | 331 |

Liste des annexes

| | |
|---|-----|
| <i>Annexe 1 : Synthèse des différentes conditions chromatographique (UHPLC-MS)</i> | 353 |
| <i>Annexe 2: Présentation des propriétés physico-chimiques (log D à pH = 3 et 6,7 ; pKa ; pKb) des composés modèles sélectionnés pour ces travaux de thèse (ChemSpider 2017)</i> | 355 |
| <i>Annexe 3 : Transitions MRM obtenues pour l'analyse des composés modèles sur l'Acquity UPLC H-Class (Waters) et couplé à un triple quadrupôle (Acquity TQ Detector, Waters)</i> | 364 |
| <i>Annexe 4 : Intensités obtenues pour les composés modèles analysés dans différentes conditions de colonnes chromatographiques et de phases mobiles</i> | 367 |
| <i>Annexe 5 :Supplementary material publication n°1</i> | 369 |
| <i>Annexe 6 : Transitions MRM obtenues pour l'analyse des composés modèles sur le module SPE (Agilent 1200)-HPLC 1290 couplée à un spectromètre MS/MS triple quadrupôle 6460 (Agilent technologies)</i> | 394 |
| <i>Annexe 7 : Supplémentary material de la publication n°2</i> | 397 |
| <i>Annexe 8 : Comparaison des sensibilités obtenues sur la cartouche multicouche en SPE hors ligne et en ligne sur l'eau milliQ et de l'Oise</i> | 416 |
| <i>Annexe 9: Présentation des sensibilité obtenues avec la cartouche Oasis HLB sur l'eau milliQ et de l'Oise</i> | 418 |

Liste des abréviations

| | |
|---------|---|
| APCI | Atmospheric Pressure Chemical Ionization |
| APPI | Atmospheric Pressure Photoionization |
| BBzP | Phtalate de benzyle et de n-butyle |
| BPA | Bisphénol A |
| C.I | Chemical ionization |
| Cd | Cadnium |
| CEP | Comité Experts Priorisation |
| CHU | Centre Hospitalier Universitaire |
| CMR | Cancérigène, Mutagène et Reprotoxique |
| COV | Composés organiques Volatils |
| Cu | Cuivre |
| DCE | Directive Cadre Eau |
| DCO | Demande Chimique en Oxygène |
| DEB | Direction de l'Eau et de la Biodiversité |
| E.I | Impact électronique |
| EDTA | Éthylène Diamine Tétra-Acétique |
| ERU | Eaux Résiduelles Urbaines |
| ESI | Electrospray |
| GC-MS | Chromatographie en phase gazeuse couplée à un simple quadropole |
| HA | Hydrocarbure Aromatique |
| HAP | Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques |
| HBCDD | Hexabromocyclododécane |
| HILIC | Hydrophilic Interaction Chromatography |
| HLB | Hydrophilic-Lipophilic-Balanced |
| INERIS | Institut National de l'Environnement Industriel et des RISques |
| LC | Chromatographie en phase liquide |
| LC-MS | Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse |
| LC-QqQ | Chromatographie en phase liquide couplée à un triple quadropole |
| LC-QTOF | Chromatographie en phase liquide couplée à un quadropole/temps de vol |
| LD | Limite de détection |
| LLE | Extraction liquide/liquide |
| LPTC | Laboratoire de Physico- et Toxic-Chimie de l'environnement |
| LQ | Limite de Quantification |
| m/Z | masse/charge |
| MAX | Mixed-mode Anion eXchange |
| MBA | Mass Balance Analysis |
| MBP | Phtalate de mono-n-butyle |
| MCX | Mixed-mode Cation eXchange |
| MEHP | Mono-(2-ethylhexyl)phthalate |
| MES | Matières en Suspension |
| MRM | Multiple Reaction Monitoring |
| ORP | Observatoire des Résidus de Pesticides |
| Pb | Plomb |
| PBDE | Polybromodiphényles |
| PFAS | Sulfonâtes d'alkyles perfluorés |

Liste des abréviations

| | |
|--------|--|
| PFBA | Acide perfluorobutanoïque |
| PFBS | Sulfonate de perfluorobutane |
| PFC | Alkyles pefluorés |
| PFCA | Carboxylate d'Alkyles Perfluorés |
| PFDA | Acide perfluorodécanoïque |
| PFDoA | Acide perfluorododécanoïque |
| PFDS | Sulfonate de perfluorodécane |
| PFHpS | Sulfonate de perfluoroheptane |
| PFHxA | Acide perfluorohexanoïque |
| PFHxS | Sulfonate de perfluorohexane |
| PFNA | Acide perfluorononanoïque |
| PFNOA | Acide perfluorooctanoïque |
| PFOA | Acide perfluorooctanoïque |
| PFOS | Sulfonate de perfluorooctane |
| PFPeA | Acide perfluoropentanoïque |
| PFPPrA | Acide perfluoropropanoïque |
| PFTTrA | Acide perfluorotridécanoïque |
| PFUnA | Acide perfluoroundécanoïque |
| PNEC | Predicted No Effect Concentration |
| POP | Polluants Organiques Persistants |
| PSSE | Polluants Spécifiques de l'Etat Ecologique |
| RFB | Retardateurs de Flamme Bromés |
| RUTP | Rejets Urbains de Temps de Pluie |
| SIM | Selected Ion Monitoring |
| SPE | Extraction sur Phase Solide |
| T.I.C | Total Ion Current |
| TBBPA | Tétrabromobisphenol A |
| TOF | Time of Flight |
| WAX | Mixed-Mode Weak Anion-eXchange |
| WCX | Mixed-Mode Weak Cation-eXchange |
| Zn | Zinc |

Communications et publications

Communications

Léonço, Daniel, François Lestremau, Patrick Pardon, Marie-Hélène Devier, and Hélène Budzinski. Développement méthodologique pour l'analyse d'une large gamme de composés organiques dans les milieux aquatiques. Journée des doctorants (Verneuil en Halatte, France, 28 Juin 2017). Communication orale.

Léonço, Daniel, François Lestremau, Claudine Chatellier, Jérôme Beaumont, Marie-Hélène Devier, and Hélène Budzinski. Evaluation of Solid Phase Extraction Technique for the Pre-Concentration of a Wide Range of Environmental Pollutants. ExTech 2016 (Torun, Pologne, 3-6 juillet 2016). Poster.

Léonço, Daniel, François Lestremau, Patrick Pardon, Marie-Hélène Devier, and Hélène Budzinski. Evaluation de La SPE Online Pour L'analyse D'une Large Gamme de Polluants Organiques Dans Les Milieux Aquatiques. SEP 2017 (Paris, France, 28-30 mars 2017). Poster.

Publications

D. Léonço, C. Chatellier, J. Beaumont, M.-H. Devier, F. Lestremau, and H. Budzinski, "Evaluation of off-line solid phase extraction approaches for the pre-concentration of a wide range of environmental pollutants in water matrices," 2017. (en préparation).

D. Léonço, F. Lestremau, M.-H. Devier, P. Pardon, and H. Budzinski, "Evaluation of on-line Solid Phase Extraction for the detection of a wide range of environmental pollutants in surface waters," 2017. (en préparation).

Introduction générale

De nos jours, l'être humain est régulièrement amené à utiliser des produits pour améliorer son quotidien et sa qualité de vie. En effet, pour son confort, l'Homme utilise de nombreux produits tels que les produits phytosanitaires pour améliorer la production agricole. Pour sa santé, il a recours aux produits pharmaceutiques et pour sa protection, certains produits tels que les retardateurs de flammes sont employés.

Il est maintenant reconnu que beaucoup de ces substances, provenant de différentes origines (industrielle, agricole, urbaine, domestique, hospitalière...), sont considérées comme des polluants. La plupart finissent par se retrouver dans les milieux aquatiques où ils sont généralement toxiques à de très faibles teneurs. Afin d'évaluer leur présence dans ces milieux, des programmes de surveillance doivent être mis en place.

Cette surveillance est cependant actuellement mise en œuvre à partir de listes de polluants ciblés ne permettant d'obtenir qu'une connaissance partielle de la contamination réelle de ces milieux.

Pour améliorer les connaissances sur la composition réelle en contaminants dans ces milieux et assurer une meilleure protection des milieux aquatiques, le développement d'approche de type « screening » est employé. Ces méthodologies sont cependant complexes à mettre en œuvre, car elles visent à refléter l'ensemble de la diversité des contaminants présents dans ces compartiments environnementaux. Elles doivent s'assurer que, sur la totalité de la chaîne analytique, le niveau de perte d'informations soit minimal.

Ainsi, des méthodes d'analyses physico-chimiques « universelles » doivent être développées. Dans ce cadre, 3 étapes majeures peuvent être distinguées : la préparation de l'échantillon d'où les polluants doivent être extraits de la matrice et concentrés, la partie séparative qui permet d'obtenir une première différenciation entre les différents constituants d'un mélange et la partie détection qui permet de les caractériser et éventuellement de les identifier. L'objectif de ce travail de thèse a visé d'optimiser chacune de ces 3 étapes sur des matrices d'eaux (fraction dissoute) dans l'optique d'analyser une large gamme physico-chimique de contaminants. Ce travail s'est plus particulièrement focalisé sur la partie consacrée à l'extraction de l'échantillon.

Une première partie de ce manuscrit (chapitre 1) rappelle le contexte de la pollution des milieux aquatiques en précisant la diversité de la contamination chimique. Par la suite, tous les procédés analytiques employés dans ces travaux de thèse dans une optique de screening seront présentés (chapitre 2).

D'après les éléments bibliographiques, une liste de composés modèles représentative de la diversité de la contamination des milieux aquatiques a été établie (chapitre 2). Dans un premier temps, ces substances ont été analysées par chromatographie en phase liquide et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse basse résolution (LC-MS/MS et GC-MS) afin de déterminer des méthodes d'analyse adéquates. Les conditions d'analyse par LC-MS/MS en termes de colonne, solvant et phase mobile ont été particulièrement investiguées (chapitre 3).

Dans une optique de retenir une large gamme de composés, la seconde partie de cette étude a été d'évaluer deux méthodes d'extraction : la SPE hors ligne et en ligne (chapitre 3). La nature des cartouches ainsi que l'influence matricielle ont été notamment étudiées. Par ailleurs, l'application des méthodes en SPE hors ligne a été réalisée lors d'un essai inter-laboratoire (chapitre 4).

La troisième et dernière partie du travail a été d'adapter et d'appliquer les méthodologies développées en chromatographie en phase liquide à une détection par spectrométrie de masse haute résolution (LC-QTOF) (chapitre 4).

Chapitre 1 : contexte de l'étude

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1 | Sources de pollution | 26 |
| 1.1 | Eaux de pluie | 28 |
| 1.2 | Stations d'épuration (STEP) | 29 |
| 2 | Activités humaines à l'origine de cette pollution | 31 |
| 2.1 | Activités urbaines et/ou domestiques | 31 |
| 2.1.1 | Produits pharmaceutiques | 31 |
| 2.1.2 | Produits de combustion | 31 |
| 2.1.3 | Utilisations et présences domestiques de substances phytosanitaires | 32 |
| 2.1.4 | Les matières plastiques | 32 |
| 2.1.5 | Les alkyles perfluorés (PFC) | 33 |
| 2.1.6 | Retardateurs de flamme | 33 |
| 2.1.7 | Soin du corps | 34 |
| 2.2 | Activités agricoles | 34 |
| 2.3 | Activités industrielles | 38 |
| 2.4 | Activités hospitalières | 40 |
| 2.5 | Bilan | 41 |
| 3 | Liens avec des études toxicologiques | 43 |
| 4 | Programme de surveillance des polluants dans les milieux aquatiques | 45 |
| 4.1 | Directive cadre sur l'eau (DCE) | 45 |
| 4.2 | Etude prospective 2012 et arrêté du 7 août 2015 | 46 |
| 4.3 | Evolution des programmes de surveillance | 48 |
| 5 | Etat de l'art des techniques analytiques de screening | 49 |
| 5.1 | Traitement de l'échantillon | 50 |
| 5.1.1 | Injection directe | 51 |
| 5.1.2 | Extraction sur Phase Solide (SPE) | 51 |
| 5.1.2.1 | SPE hors ligne | 52 |
| 5.1.2.1.1 | Cartouches à rétention de phase inverse | 55 |
| 5.1.2.1.2 | Cartouches à rétention « mixed-mode » | 56 |
| 5.1.2.1.3 | Cartouches en série | 57 |
| 5.1.2.1.4 | Cartouche multicouche | 58 |
| 5.1.2.2 | SPE en ligne | 59 |
| 5.1.2.3 | Extraction Liquide/Liquide (LLE) | 62 |
| 5.1.2.4 | Conclusions méthodologiques | 63 |
| 5.2 | Séparation | 64 |
| 5.2.1 | Chromatographie en phase liquide à ultra haute performance (UHPLC) | 64 |
| 5.2.1.1 | Colonnes à rétention de phase inverse | 65 |
| 5.2.1.2 | Colonnes de type HILIC | 70 |
| 5.2.2 | Chromatographie en phase gazeuse (GC) | 71 |
| 5.2.3 | Conclusions méthodologiques | 74 |
| 5.3 | Détection | 74 |
| 5.3.1 | Source d'ionisation | 75 |
| 5.3.2 | Analyseurs en spectrométrie de masse | 75 |
| 5.3.3 | Conclusions méthodologiques | 76 |
| 5.4 | Traitements de données en analyse non ciblée | 76 |

1 Sources de pollution

Un milieu aquatique est caractérisé par des habitats (berges, fonds, courants), des populations végétales et animales et par la qualité physico-chimique de l'eau (température, nutriments...) (ONEMA 2012). Il est fortement influencé par le climat, la géologie, l'ensoleillement et la végétation. Les écosystèmes aquatiques sont formés par les lacs, les cours d'eau et les zones inondables ou humides (ex : marais). L'écosystème aquatique est le résultat d'un équilibre entre un milieu naturel, les espèces animales et végétales qui y vivent. En l'absence de pollution, ces milieux fournissent des biens et des services essentiels : nourriture, énergie, auto-épuration, approvisionnement en eau... Cependant, ces milieux peuvent être détériorés par la pollution ou par les aménagements (barrages, digues...). Ces perturbations conduisent à un dysfonctionnement de l'équilibre entre le milieu naturel, les espèces animales et végétales.

Différents types d'écosystèmes aquatiques peuvent être référencés selon un parcours qualifié d'amont à l'aval (Figure 1).

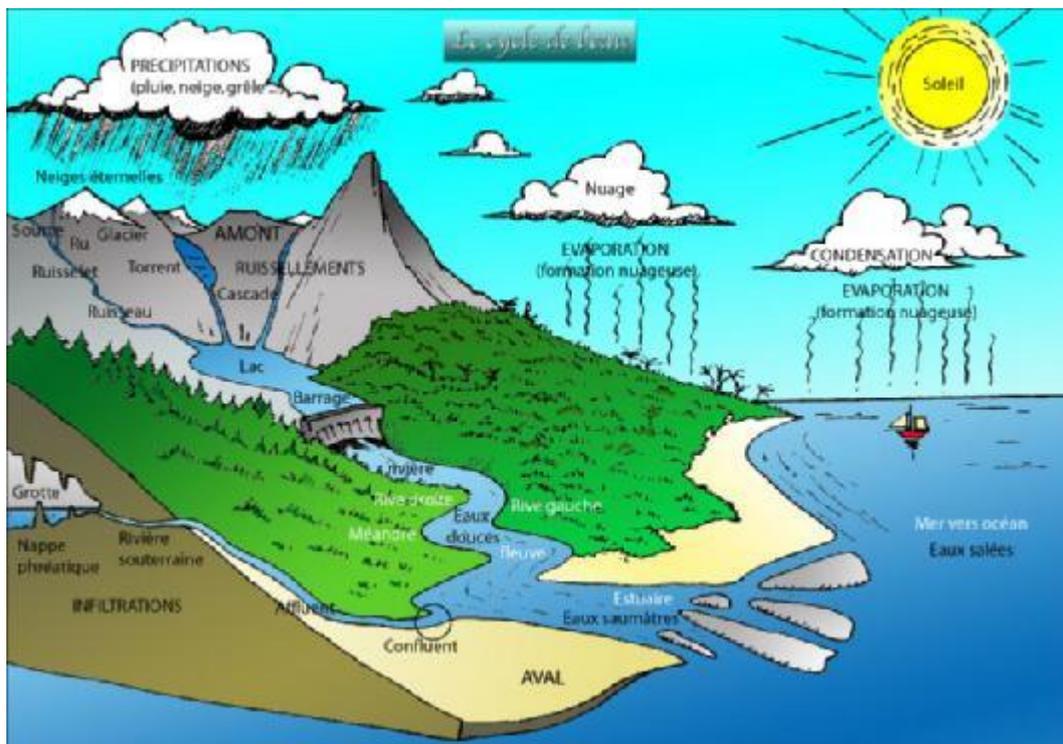


Figure 1 : Cycle de l'eau (de l'amont à l'aval) (SIEPAB)

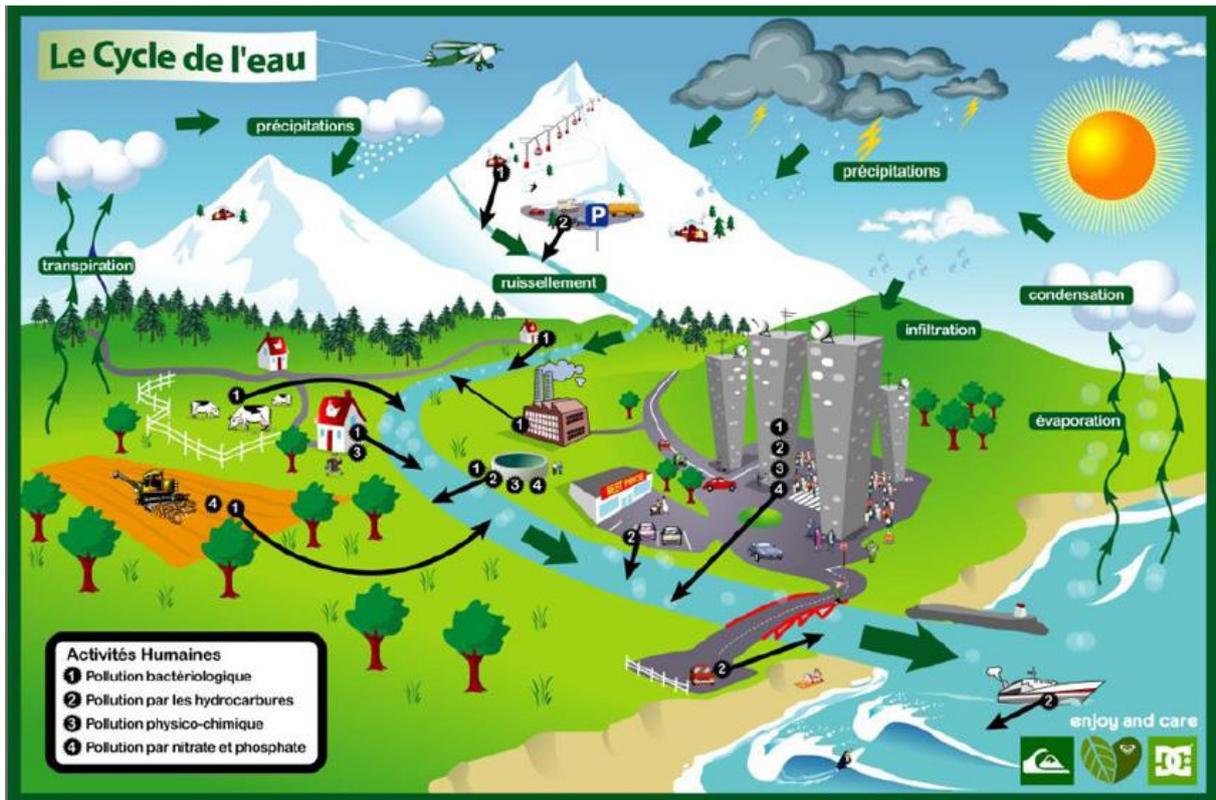


Figure 2 : Présentation des différentes origines de la pollution des eaux (Empreinte H2O).

Un grand nombre de polluants organiques ou inorganiques peuvent être retrouvés dans les différents compartiments des milieux aquatiques (eaux, sédiment et biote). La contamination (passée et actuelle) des milieux aquatiques est corrélée historiquement avec l'évolution des activités sociétales et industrielles humaines. A titre d'exemple, grâce à son efficacité et son faible coût, l'atrazine a beaucoup été employée en tant qu'herbicide. Son utilisation en Europe a été interdite en 2003. Cependant, malgré son interdiction, ce contaminant était toujours détecté dans les eaux de surface ainsi que dans les urines de femmes enceintes (Chevrier et al. 2011). Des recherches ont montré que ce composé pouvait contaminer les eaux souterraines (Hénault-Ethier 2010). Par ailleurs, des études toxicologiques ont démontré que ce composé était un perturbateur endocrinien (Kucka et al. 2012). L'atrazine fait partie des polluants organiques persistants (POP). Ainsi, malgré leurs interdictions, ces composés participent largement à la pollution actuelle des milieux. De ce fait, la pollution actuelle est un mélange des activités polluantes du passé et de celles d'aujourd'hui. Cela entraîne donc une diversité très importante de contaminants associés à leurs produits de dégradation qui peuvent donc provenir de différentes sources de contamination. D'après la Figure 2, la pollution peut être apportée par :

- ✓ les eaux de ruissellement
- ✓ les rejets des stations d'épuration (STEP)
- ✓ les activités urbaines et/ou domestique
- ✓ les activités agricoles
- ✓ les activités industrielles
- ✓ les activités hospitalières

Tous ces facteurs contribuent à la dégradation d'un milieu aquatique en y amenant ou en y rejetant de nombreux contaminants. Les paragraphes suivants présentent les différents types d'activités qui contribuent à la modification de ces milieux. Cette liste de sources et de polluants n'est pas exhaustive. De nombreuses autres sources ou substances non répertoriées sont également présents dans ces milieux et donc, potentiellement responsables de la perturbation de ces derniers.

1.1 Eaux de pluie

La pollution des eaux de ruissellement urbain peut être distinguée en plusieurs origines, dont l'eau de pluie (Hemain 1987). Elle est polluée par des substances se retrouvant dans l'atmosphère. Les gouttes d'eau peuvent atteindre le sol si elles ont une taille suffisante et s'il existe des particules solides dans l'atmosphère. De ce fait, une partie des polluants atmosphériques urbains tel que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), sont entraînés vers le sol lors de ces périodes de pluies. Il a été également montré que les pesticides peuvent être présents dans l'atmosphère sous forme gazeuse ou particulaire. De ce fait, ils sont aussi susceptibles d'être entraînés par l'eau de pluie. Plusieurs facteurs tels que la nature des pesticides, les caractéristiques des précipitations ou les conditions météorologiques, peuvent influencer leurs présences dans l'eau de pluie (Miquel 2003). Le Tableau 1 présente les concentrations moyennes relevées et les concentrations maximales de deux pesticides entre avril et juin (atrazine et alachlore), détectés dans les eaux de pluie de Bretagne.

Tableau 1 : Pesticides dans les eaux de pluie en Bretagne (Miquel 2003)

| | Atrazine | | Alachlore | |
|-----------------------------------|----------|------|-----------|------|
| | 1996 | 2000 | 1996 | 2000 |
| [C] _{moyenne} (µg/L) | 1,5 | 0,1 | 3,8 | 0,25 |
| [C] _{maximale} (µg/L) | 4,6 | 0,6 | 24 | 2,4 |

1.2 Stations d'épuration (STEP)

Les eaux résiduaires urbaines (ERU) sont des eaux usées de provenances diverses, impactées par des activités multiples : domestique, industrielle, hospitalière et agricole. Dans les ERU, différentes formes de pollutions sont identifiées et doivent être traitées par les stations d'épuration. Plusieurs formes de contaminations sont recensées.

Différents programmes de recherche ont été mis en place pour étudier l'élimination des polluants au cours du traitement des eaux usées [ex : AMPERES (2006-2009) et ARMISTIQU (2010-2014)]. Ces projets ont montré que 50 % des substances sont éliminées à plus de 70 % (Lachassagne 2014). Certaines substances sont éliminées par biodégradation (triclosan, hormones estrogéniques, analgésiques). Le reste est éliminé par adsorption sur les boues, (plus particulièrement les polybromodiphénylèthers (PBDE), HAP, ou métaux comme Hg, Fe, Cu, Cr, Zn, Cd, Pb) (Coquery et al. 2009). Cependant, certaines substances ne sont éliminées qu'à 30 %. Cela signifie que les traitements utilisés ne sont pas suffisamment efficaces pour ces composés. Il s'agit particulièrement des composés polaires [ex : glyphosate, AMPA (produit de dégradation du glyphosate), diuron...], de nombreux composés pharmaceutiques (carbamazépine, diclofénac, propranolol...) ou des carboxylates d'alkylphénols. Ces études ont également montré que 15 % des substances prioritaires de la directive cadre sur l'eau (DCE), 30 % des molécules organiques et 90 % des substances pharmaceutiques se retrouvent dans les rejets de stations d'épuration avec des niveaux de concentration supérieurs à 100 ng/L. Leurs propriétés physico-chimiques et leurs concentrations élevées en entrée de station d'épuration peuvent expliquer leurs fortes concentrations dans les rejets.

Les STEP ont donc été construites pour filtrer un certain nombre de polluants, essentiellement composés de carbone, d'azote mais pas les micropolluants. Ces derniers

sont définis comme des molécules organiques ou minérales, provenant des activités domestiques, agricoles, industrielles ou médicales, qui peuvent avoir, au-delà d'un certain seuil, des impacts négatifs sur les écosystèmes et l'environnement. De ce fait, des molécules (en particulier les plus polaires) ne sont pas filtrées par les STEP et sont ainsi rejetées sans contrôle dans les rivières.

2 Activités humaines à l'origine de cette pollution

2.1 Activités urbaines et/ou domestiques

La contamination des milieux aquatiques est en partie due aux activités urbaines et/ou domestiques. En effet, de par ses activités et son mode de vie, l'être humain est susceptible d'utiliser des substances chimiques dans le but d'améliorer son confort (ex : spray anti-moustiques), de se soigner (ex : médicaments), de se protéger (ex : retardateurs de flamme) et de se déplacer (ex : utilisation des transports).

2.1.1 Produits pharmaceutiques

Depuis plus de cinquante ans, la production de composés chimiques organiques pour l'industrie ou l'usage domestique ne cesse d'augmenter (Rogers 1996). En plus des pesticides, les résidus de médicaments sont de plus en plus étudiés (Hirsch et al. 1998). Ils sont caractérisés comme polluants émergents, non encore réglementés, mais sur lesquels l'attention scientifique et publique se focalisent (Petrović et al. 2003).

Les composés pharmaceutiques provenant de la médecine humaine et animale représentent plus de 4 000 molécules. Après avoir été consommés, les composés actifs ne sont que partiellement métabolisés et sont éliminés du corps grâce aux urines et/ou aux fèces. De ce fait, les effluents domestiques et hospitaliers, reliés aux stations d'épuration représentent un lieu de convergence de tous ces contaminants (Hirsch et al. 1998; Beausse 2004; Mullot 2009; Deblonde et al. 2011; Verlicchi et al. 2012).

L'apport de preuves scientifiques d'effets biologiques (Halling-Sorensen et al. 1998; Hirsch et al. 1998), même à de très faibles doses, a contribué aux développements des recherches sur ces polluants émergents. Ainsi, des traces de résidus médicamenteux ont pu être détectés dans les différents compartiments aquatiques liés aux cycles de l'eau : les eaux usées urbaines (Lindberg et al. 2005), les effluents d'entrée et de sortie de station d'épuration (Miao et al. 2002; Andreozzi et al. 2003), les eaux souterraines (Daughton and Ternes 2009) et les sédiments (Díaz-Cruz et al. 2003).

2.1.2 Produits de combustion

Dans ce cadre, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont principalement issus de la combustion domestique incomplète de matières organiques (Crespo 2009). Leur présence dans les eaux est en grande partie provoquée par le ruissellement d'eaux en provenance des zones urbaines ou industrielles ou par celui de dépôts atmosphériques

(Brignon et al. 2005). Ces émissions atmosphériques sont provoquées par la combustion du bois et du charbon dans les secteurs résidentiels et tertiaires et aussi associées au transport automobile (surtout à cause de l'utilisation des moteurs diesel) (OFSP 2008).

2.1.3 Utilisations et présences domestiques de substances phytosanitaires

Le secteur agricole est le plus gros consommateur de pesticides (environ 80 % de tonnages). Cependant, ces produits sont également couramment utilisés dans les ménages à des fins domestiques. L'usage domestique et industriel représente ainsi chacun 10 % de la consommation totale.

A titre d'exemple, dans un foyer domestique, l'utilisation et l'exposition à différents objets contenant des pesticides peuvent provenir des colliers anti-puce, biscuits, céréales, bombes insecticides, lotions anti-poux, anti-acariens etc.

2.1.4 Les matières plastiques

Dans la catégorie des plastifiants, un intérêt particulier a été porté au bisphénol A (BPA). Le BPA a été utilisé de manière intensive avec une production mondiale estimée à 3 millions de tonnes par an. C'est l'un des composés chimiques les plus utilisés notamment dans les résines dentaires, le papier recyclé, les lentilles de contact, certains matériaux électroniques (Vom Saal and Hughes 2005). Il est omniprésent dans l'environnement. Il a notamment été détecté dans les poussières (concentration moyenne de 553 µg/Kg), dans l'air (0,51 ng/m³) et l'eau des lacs (souvent < 1 ng/L, mais jusqu'à 3,6 mg/L) (Vandenberg et al. 2007).

Les phtalates constituent une autre famille de molécules largement employées dans les matières plastiques. Ce sont des composés chimiques dérivés de l'acide phtalique, dont la production mondiale est de 3 millions de tonnes par an. 100 000 tonnes sont produites en France. Ils sont couramment employés depuis les années 1950 en tant que plastifiants pour assouplir les plastiques, principalement de type PVC. Ils sont notamment utilisés dans l'automobile, les revêtements pour les planchers et les murs, les isolants pour câbles et fils souples, le matériel médical, les médicaments, les peintures, les laques, les encres d'imprimerie, les céramiques, les emballages alimentaires, les fournitures scolaires (ex : les gommes). Les cosmétiques sont le deuxième domaine d'application des phtalates, où ils sont employés comme agents fixateurs pour augmenter le pouvoir de pénétration d'un produit sur la peau ou empêcher le vernis de craquer.

2.1.5 Les alkyles perfluorés (PFC)

Les alkyles perfluorés (PFC) sont utilisés dans plus de 200 applications domestiques et industrielles. Pour les activités domestiques, ils sont employés dans la fabrication de substances hydrofuges, oléofuges, anti-salissantes et imperméables aux graisses. Ils sont appliqués sur des tissus, emballages, tapis et moquettes. Ils sont préconisés pour la formulation d'agents tensio-actifs, de détergents, d'émulsifiants, de mouillants, de dispersants et de mousses extinctrices.

Ce sont donc des substances ubiquitaires qui peuvent être retrouvées dans l'ensemble des compartiments environnementaux (biote, sédiments, sols, atmosphère, pluies, eaux). Ils se retrouvent dans les eaux de surface, véhiculés par les effluents de stations d'épuration des eaux industrielles (fabrication ou utilisation des alkyles perfluorés), et urbaines (dégradation de biens de consommation). Ce sont des molécules particulièrement résistantes à l'hydrolyse acido-basique, la photolyse, la dégradation microbienne et la métabolisation par les vertébrés.

Plusieurs études ont mis en évidence la présence d'alkyles perfluorés dans les rejets de stations d'épuration (Clara et al. 2008; Lien et al. 2008; Clara et al. 2009). La dégradation des précurseurs dans les bassins de boues activées serait à l'origine d'une augmentation en sortie de STEP pour les PFCA (Carboxylate d'Alkyles Perfluorés) et l'acide perfluorooctanesulfonique (PFOS) (Sinclair and Kannan 2006; Becker et al. 2008). Shultz et al. (2006) ont remarqué également que les effluents en sortie étaient plus concentrés qu'en entrée, notamment pour les PFCA. D'après toutes ces études, les rejets de STEP sont une source non négligeable de PFC dans le milieu récepteur. Ces composés y sont très mal retenus et les procédés de traitement ont tendance à favoriser la décomposition des précurseurs en métabolites [PFAS (sulfonates d'alkyles perfluorés) et PFCA]. Ainsi, en STEP, les composés perfluorés ne sont pas efficacement éliminés, ce qui contribue à leur dissémination dans les eaux environnementales.

2.1.6 Retardateurs de flamme

La plupart des objets de notre quotidien contiennent des retardateurs de flamme : matières plastiques d'appareils électriques, électroménagers et électroniques (câbles, ordinateurs, télévisions), vêtements, tapis, tissus d'ameublement, mobiliers, mousses et matériaux de rembourrage en isolants, peintures, certains matériaux de construction. Ces substances sont

ajoutées lors de la fabrication du produit afin qu'ils soient résistants en cas d'incendie et répondent aux normes de sécurité incendie.

Les retardateurs de flamme présentent une hydrophobicité importante. De ce fait, ils s'adsorbent facilement sur les particules. Ainsi, ils sont retrouvés dans la plupart des sols, notamment sur les terres agricoles. Ils peuvent être également retrouvés dans les milieux aqueux. Par exemple, des PBDE ont été identifiés dans des cours d'eau au Québec à des niveaux de concentrations de l'ordre du pg/L (Berryman et al. 2009). Le tétrabromobisphénol A (TBBPA) est présent généralement à des concentrations relativement faibles (de l'ordre du ng/L) (Marteau 2012). Une étude sur l'hexabromocyclododécane (HBCDD) dans l'eau et les sédiments de 9 lacs anglais a mis en évidence des concentrations comprises entre le pg et le ng/L (Hale et al. 2006).

2.1.7 Soins du corps

Les filtres UV sont particulièrement utilisés dans les produits cosmétiques de protection solaire. Pour protéger la peau, les cheveux et assurer la stabilité des formulations (Silvia Díaz-Cruz and Barceló 2009), les filtres UV entrent également dans la composition d'une grande variété de cosmétiques [produits de soins de la peau et des cheveux, lotions, baumes à lèvres, shampooings, laques, crèmes et parfums (Rodil and Moeder 2008)]. Ils sont aussi incorporés dans divers matériaux (plastiques, peintures, textiles) (Kunisue et al. 2010; Kameda et al. 2011) ainsi que dans les emballages alimentaires (Moreta and Tena 2010).

Ils sont donc détectés dans les eaux de surface (lacs, rivières), l'eau de mer (Giokas et al. 2007), dans les eaux usées (Balmer et al. 2005; Jeon et al. 2006; Kupper et al. 2006; Liu et al. 2012), l'eau potable, les sols, les boues (Plagellat et al. 2005) et le biote (Balmer et al. 2005; Zenker et al. 2008).

2.2 Activités agricoles

L'augmentation de la population a contraint l'Homme à développer les activités agricoles. La productivité a très fortement augmenté depuis 1945 grâce aux traitements des cultures par différents pesticides et herbicides.

L'agriculture peut porter atteinte à l'environnement de plusieurs façons : l'accroissement des terres cultivables, la consommation d'eau, l'utilisation d'engrais chimiques, de pesticides

ou d'herbicides, le rejet de gaz dans l'atmosphère. L'agriculture est donc une des principales sources de pollution des milieux environnementaux.

Depuis les années 1940, l'utilisation de pesticides a connu une augmentation constante et leur consommation a doublé tous les dix ans de 1945 et 1985. De nos jours, environ 1 million de tonnes de pesticides sont produites chaque année dans le monde.

La Figure 3 montre que le marché des produits phytosanitaires, spécialement pour les herbicides et les fongicides, a un poids économique important, notamment en France. La Figure 4 souligne par ailleurs également que les 2 catégories de produits phytosanitaires les plus employées sont les herbicides et les fongicides.

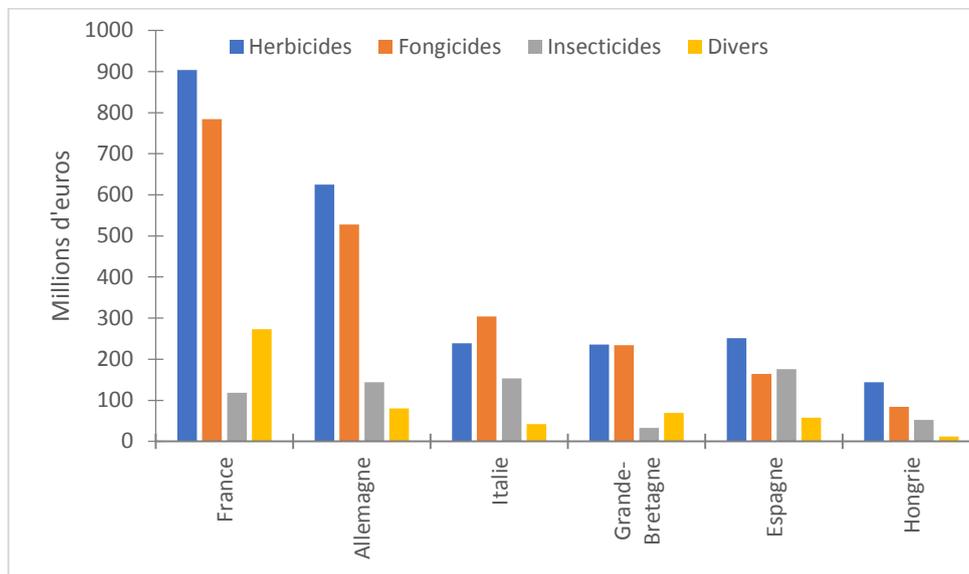


Figure 3 : Le marché des phytosanitaires en Europe en 2008 (Union des Industries de la Protection des Plantes 2009).

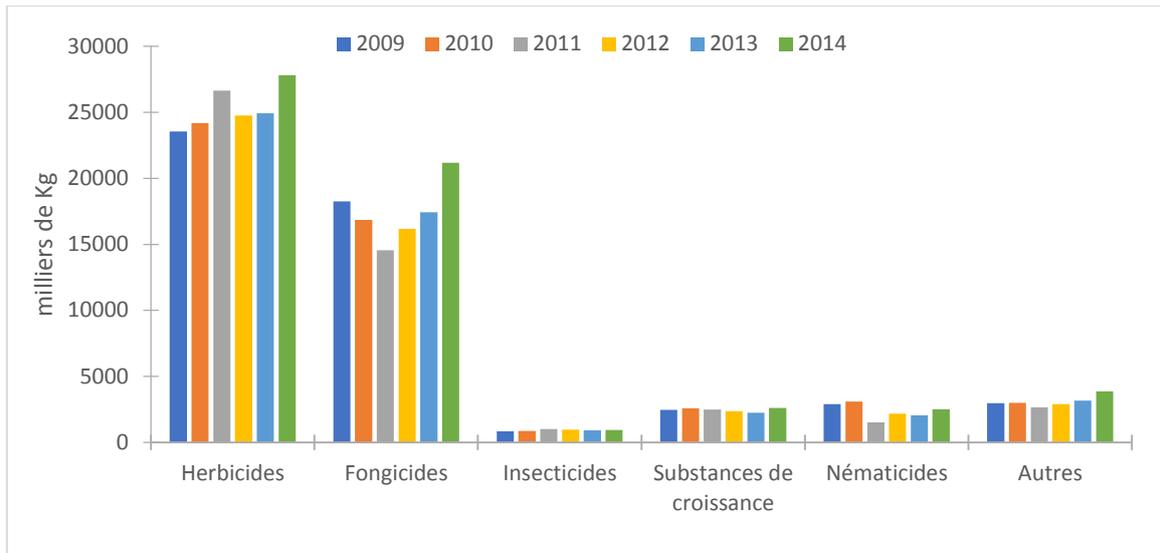


Figure 4 : Quantité de produits phytosanitaires par fonction et par années utilisés en France (Planetoscope)

De nombreuses études ont démontré l'importance de la contamination environnementale par ces produits, ainsi que l'impact sur l'environnement et sur les écosystèmes (Su et al. 2008; Reyes-Perez 2009; Gong et al. 2010; ANSES 2010; Lazartigues 2010).

De nos jours, suivant les besoins et les applications, un grand nombre de pesticides sont employés. Ces derniers possèdent des propriétés physico-chimiques et des modes d'action différents. Plus de 500 substances actives ont été recensées et homologuées en France. La grande diversité et le nombre de pesticides rend assez complexe leur classification. Les produits phytosanitaires les plus utilisés sont les herbicides (46 %), les insecticides (25 %) et les fongicides (26 %). Ils sont généralement utilisés pour lutter contre les végétaux, les insectes et les champignons. Les rodenticides, les bactéricides, les acaricides, les molluscicides, les taupicides, les parasiticides et les corvicides peuvent être assimilés à d'autres classes de pesticides (divers) (Figure 5).

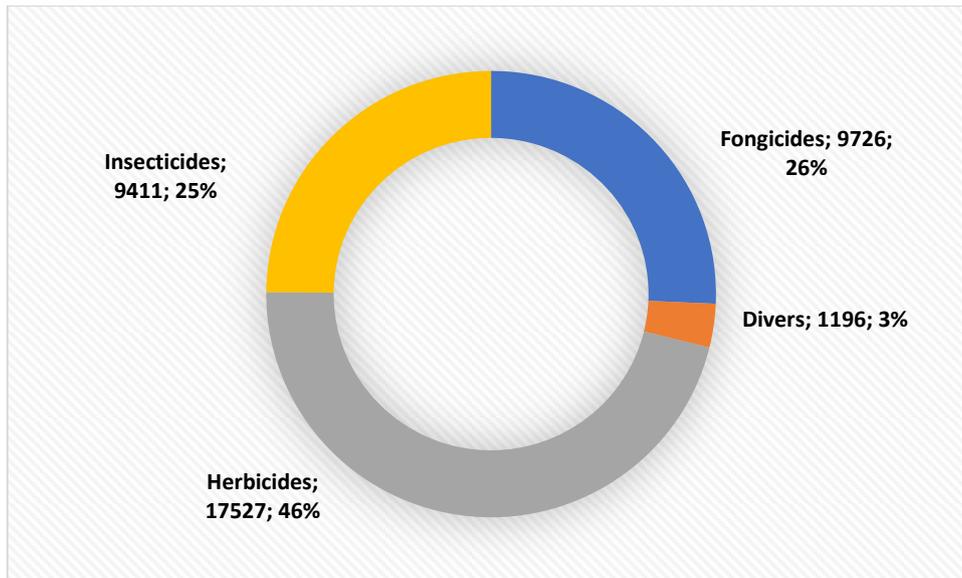


Figure 5 : Répartition de l'utilisation des pesticides (en milliards de dollars et en %) du marché mondial en 2009 par catégorie de produits phytosanitaires (Union des Industries de la Protection des Plantes 2009)

En règle générale, les pesticides ou produits phytosanitaires contaminent les terres agricoles ainsi que les céréales, les fruits et les légumes directement lors de leurs applications. Une partie de ces produits migre dans le compartiment aérien par des phénomènes de spray drift¹, d'érosion éolienne ou par volatilisation et va ainsi voyager sur de longues distances. Certains sont dégradés dans l'atmosphère par des phénomènes de photodégradation, les autres finissent par retomber au sol lors de dépôts secs ou humides. Ils peuvent se retrouver parfois très éloignés de leur zone d'utilisation. Une fois au sol, les produits phytosanitaires se retrouvent dans les eaux de surface et atteignent les rivières suite à des phénomènes de ruissellement à la surface du sol ou par l'intermédiaire du drainage. Une autre partie s'infiltre en profondeur dans le sol par percolation, avant de contaminer les eaux souterraines. Les différentes voies d'introduction de ces contaminants dans l'environnement sont présentées Figure 6.

¹ C'est un phénomène dans lequel il se produit premièrement une dispersion dans l'atmosphère lors de l'épandage. Les particules les plus fines restent en suspension dans l'air et se dispersent dans l'atmosphère sans atteindre les surfaces ciblées. Les conditions météorologiques ayant un impact sur ce phénomène, ainsi le vent peut entraîner ces composés sur de très longues distances.

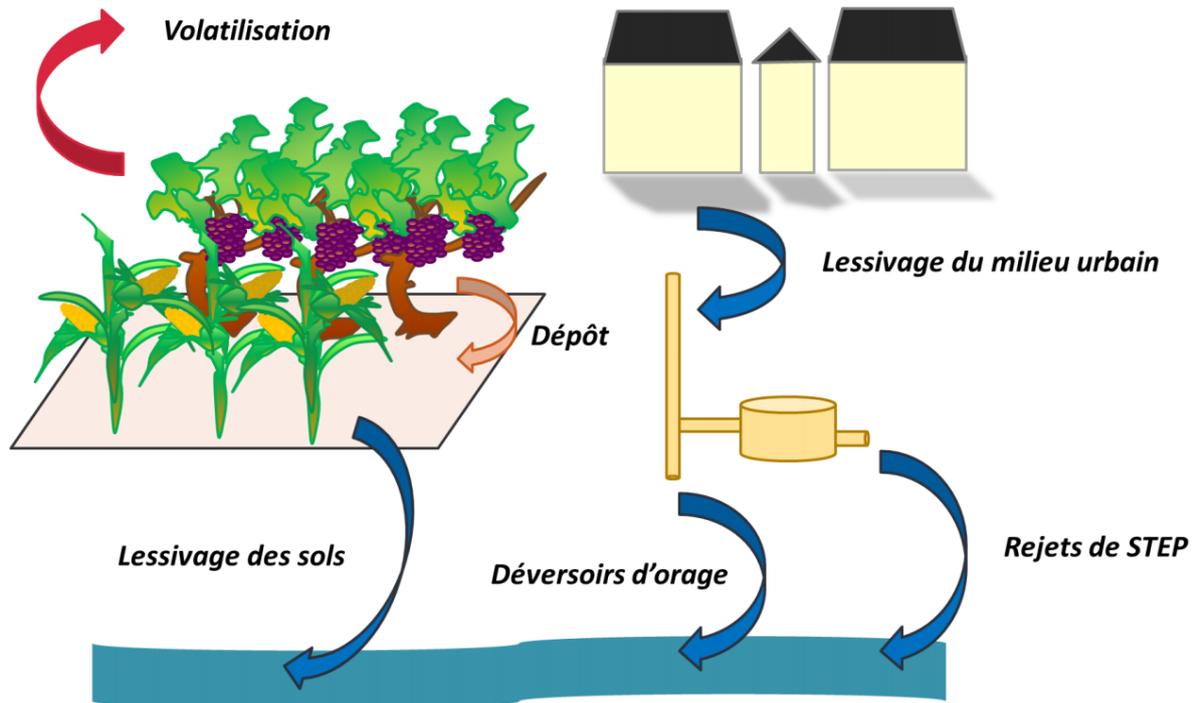


Figure 6 : Devenir des produits phytosanitaires dans les différents compartiments de l'environnement (eau, air, sol) (Cruz 2015)

2.3 Activités industrielles

Les activités industrielles sont également directement responsables de la contamination des milieux. Parmi tous les contaminants, il peut être notamment distingué :

- ✓ les HAP. Ils peuvent également polluer les eaux naturelles via les secteurs industriels (raffinerie, dépôts d'hydrocarbures, cokerie et métallurgie, traitement des déchets, industrie du caoutchouc, chimie...).
- ✓ les pesticides. En France, après l'usage domestique, les communes représentent le deuxième consommateur de produits phytosanitaires en zone non agricole. A titre d'exemple, ils sont utilisés pour l'entretien des espaces verts, des parterres de fleurs, de la voirie, des parkings, des trottoirs... Les produits les plus couramment employés font partie de la famille des herbicides. L'entretien des réseaux ferrés représente la troisième source d'utilisation non agricole de pesticides en France. En 1984, 400 tonnes de pesticides ont été appliquées sur l'ensemble des voies ferrées (ANSES 2010). Cependant, ce chiffre a baissé au cours des années car en 2004, les quantités de pesticides pouvaient être estimées à 200 tonnes. Une étude a été réalisée par l'INERIS en 2008 afin d'appréhender le recours aux pesticides dans la gestion des

réseaux routiers. 154 produits commerciaux et 69 substances actives différentes ont été recensés (Gouzy et al. 2008). Il s'agit principalement d'herbicides car cette classe de produits phytosanitaires représente 73 % des produits utilisés pour les routes (Figure 7). Les substances couramment employées sont le glyphosate (56 %), le trichlorfon, l'aminotriazole, l'hydrazine maléïque, le 2,4 D et le dichlorop-P.

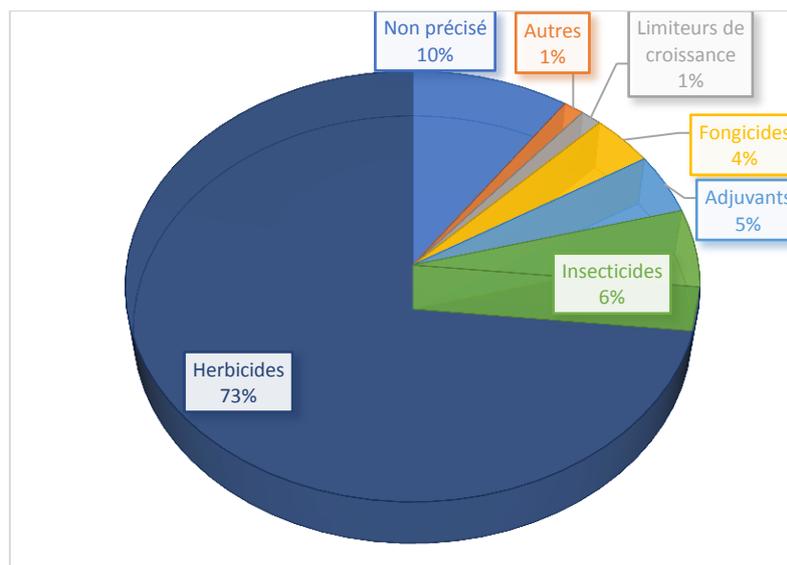


Figure 7 : Utilisation des produits phytosanitaires pour l'entretien des routes (Gouzy et al. 2008)

- ✓ les composés perfluorés. Des études ont montré la contribution des industries au rejet des alkyles perfluorés. En effet, Clara et al. (2009) ont étudié 9 rejets provenant d'industries travaillant dans diverses branches (textiles, métallurgie, papeterie...). Les plus fortes concentrations de PFOS ont été recensées dans les rejets d'industrie travaillant sur des métaux (galvanisation, placage...). L'acide perfluorooctanoïque (PFOA) a été retrouvé dans tous les rejets. Shivakoti et al. (2010) ont étudié 5 rejets, provenant d'industries travaillant également dans diverses branches (textiles, électronique, plasturgie, chimie, cosmétiques...). Le sulfonate de perfluorobutane (PFBS), le PFOA et l'acide perfluorohexanoïque (PFHxA) ont été fréquemment retrouvés. L'impact sur la qualité des eaux des activités des fabricants des fluoropolymères (PTFE, PFA...) a été étudié en amont d'une usine des industries DuPont. De fortes concentrations ($\mu\text{g/L}$) de PFOA ont été retrouvées (Emmett et al. 2006; Paustenbach et al. 2007). Une étude sur la qualité des eaux de la rivière Tennessee a

montré un accroissement important, en aval d'une usine (synthétisant des composés perfluorés), des teneurs en PFOS et surtout en PFOA (Hansen et al. 2002).

- ✓ les alkylphénols (AK). Les alkylphénols éthoxylés sont fabriqués en grandes quantités. Ils sont obtenus par réaction d'un AK avec un ou plusieurs oxydes d'éthylène produisant la chaîne éthoxylée (Bergé 2012). Ils servent d'intermédiaires dans la fabrication d'agents tensioactifs. Les alkylphénols se forment lors de la dégradation des alkylphénols éthoxylés. En Europe, la production et l'importation des nonylphénols étaient de 82 000 tonnes en 1997 (INERIS 2005). De par leur large utilisation, ce sont des composés ubiquitaires dans l'environnement, d'autant plus que les traitements dans les stations d'épuration ne sont pas adaptés pour traiter ce type de composé. En effet, selon une estimation, 65 % des alkylphénols et de leurs dérivés entrant dans les stations d'épuration sont rejetés dans l'environnement (Ahel et al. 1994).

D'autres polluants tels que les filtres UV, les retardateurs de flamme ou encore les polychlorobiphényles (PCB utilisés dans les condensateurs), peuvent également provenir du milieu industriel.

2.4 Activités hospitalières

Toutes les structures hospitalières génèrent de grandes quantités d'eaux usées. 750 L (voire plus) par lit et par jour seraient estimés pour les besoins en eau d'un centre hospitalier universitaire (CHU) : 250 à 350 L pour l'hospitalisation et la technique médicale, 350 à 450 L pour les services généraux (CLIN 1999). Les nombreux effluents provenant des services hospitaliers sont d'origines :

- eaux domestiques (toilette des patients, eaux de vannes)
- eaux issues des services de soins
- eaux des services généraux (restauration, blanchisserie...)
- eaux « médico-techniques » (hémodialyse, stérilisation...)
- eaux techniques non hospitalières (chaufferie, climatisation...)

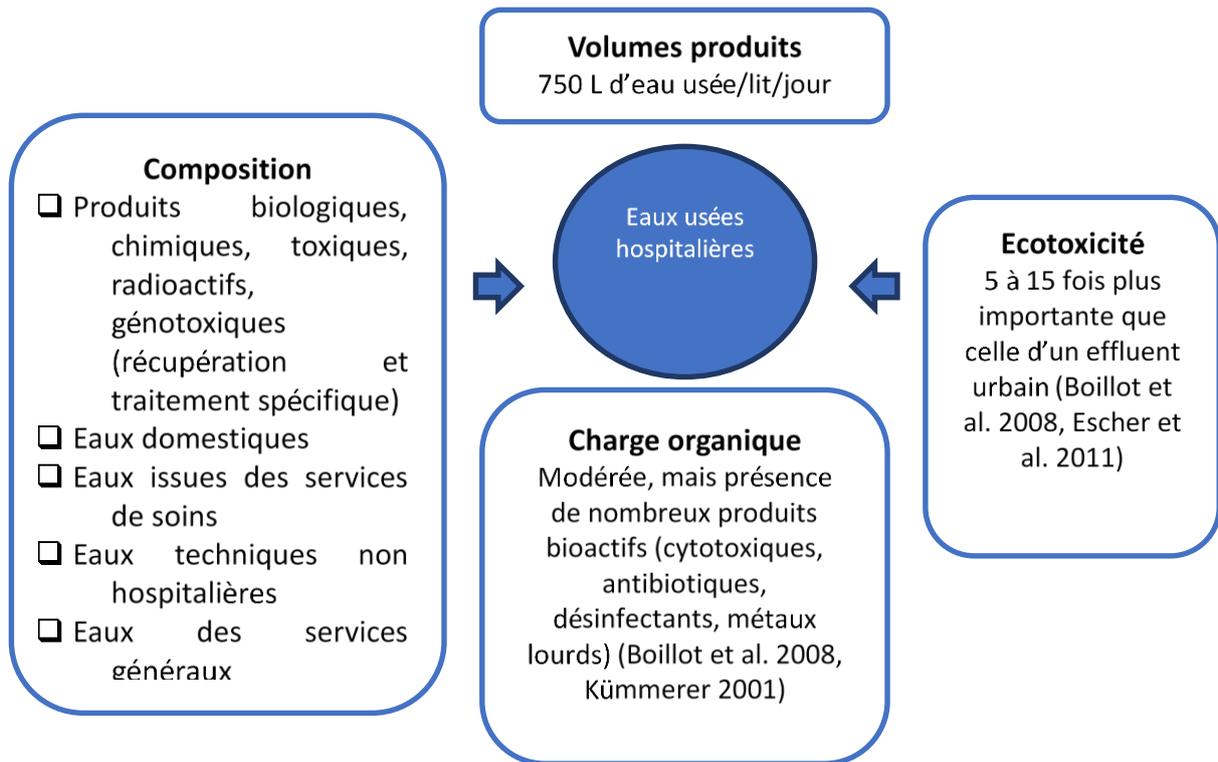


Figure 8 : Caractéristiques et origines des polluants provenant des effluents hospitaliers (Lachassagne 2014)

Les composés (plus particulièrement les composés cytostatiques pour le traitement des cancers), présents dans les eaux provenant des activités de soins, présentent des risques écotoxicologiques pour l'environnement (Escher et al. 2011). Les effluents provenant de l'activité hospitalière sont ainsi la source d'une pollution médicamenteuse et microbiologique (ex : espèce antibio-résistante). Les antibiotiques font parties des contaminants les plus rejetés dans les effluents hospitaliers. Par ailleurs, la pollution provenant des produits pharmaceutiques peut également provenir du milieu urbain.

Verlicchi et al. (2012) ont démontré que la pollution provenant des effluents hospitaliers est différente de celle des effluents urbains et que les effluents hospitaliers peuvent représenter la principale source de polluants émergents (contaminants non réglementés en France), en particulier les antibiotiques et les régulateurs de lipides.

2.5 Bilan

De nombreuses activités industrielles ou sociétales sont responsables directement ou indirectement de la pollution des milieux aquatiques environnementaux. Chacune de ces sources émet des produits plus ou moins spécifiques à leur activité, ce qui entraîne qu'une très large diversité de substances peut être retrouvée dans ces milieux. De plus, de

nombreux polluants peuvent également subir des dégradations, ce qui multiplie le nombre de contaminants susceptibles d'être présents dans l'environnement.

3 Liens avec des études toxicologiques

Plusieurs études toxicologiques et écotoxicologiques ont démontré que de nombreuses substances peuvent avoir un impact néfaste sur les milieux aquatiques. Parmi ces substances, des perturbateurs endocriniens ou des CMR (Cancérogène, Mutagène et Reprotoxique) peuvent être recensés (Sumpter 2005).

L'évaluation des effets toxiques d'une ou de plusieurs substances peut être réalisée à partir d'essais toxicologiques. L'analyse de l'équilibre des masses ou Mass Balance Analysis (MBA) est couramment utilisée pour évaluer ou expliquer la réponse biologique d'un échantillon environnemental (Khim et al. 2001). Cette approche est beaucoup utilisée pour l'évaluation des composés oestrogéniques dans les extraits environnementaux.

Mise en place pour l'agence de protection de l'environnement américaine (US-EPA) au début des années 90, l'analyse dirigée par l'effet ou Effect Directed Analysis (EDA) (Burgess et al. 2013) a été développée dans le but d'identifier des substances actives dans les effluents municipaux. Cette technique résulte d'une combinaison entre les outils biologiques de détection (ex : bio essais in vitro) et les outils physico-chimiques (ex : extraction, fractionnement, analyses chimiques) et a pour but de réduire la complexité du mélange environnemental, afin de cibler les composés actifs qui seront analysés par des méthodes d'analyses chimiques.

Les différentes études écotoxicologiques ont ainsi démontré que même de faibles niveaux de concentrations, de l'ordre du ng/L, les polluants pouvaient être responsables d'effets néfastes pour les milieux environnementaux. Ainsi, des méthodes analytiques performantes, permettant de détecter et d'analyser une large gamme de contaminants environnementaux à ces niveaux de concentration, doivent être mise en œuvre. Le Tableau 2 présente quelques niveaux de concentrations retrouvées dans les eaux de rivière lors de l'analyse des alkylphénols, du BPA, des composés pharmaceutiques et des pesticides.

Tableau 2 : Niveaux de contamination d'eaux de rivière pour différentes familles de molécules

| Familles | [C] (ng/L) | Références |
|--------------------------|---------------|------------------------------|
| Alkylphénols + BPA | 1000 | (Aerni et al. 2003) |
| | 1-10 | (Zhang et al. 2006) |
| | 15-1500 | (Laganà et al. 2004) |
| | 10-100 | (Arditsoglou et al. 2008) |
| | 5000 | (Navarro-Ortega et al. 2010) |
| Composés pharmaceutiques | 1-100 | (Vanderford et al. 2003) |
| | 50 | (Hilton and Thomas 2003) |
| | 2-300 | (Zuccato et al. 2005) |
| | 1-100 | (Zhang and Zhou 2007) |
| | 1-100 | (Togola and Budzinski 2008) |
| Pesticides | 10-1000 | (Battaglin et al. 2010) |

Résultantes d'études éco-toxicologiques, les Normes de Qualité Environnementale (NQE) ont été mises en place dans le cadre de la directive cadre sur l'eau (DCE) (voir description paragraphe suivant) afin de prévenir et de réduire la pollution des eaux. Elles sont définies comme étant *la concentration d'un polluant ou d'un groupe de polluants dans l'eau, les sédiments ou le biote qui ne doit pas être dépassé, afin de protéger la santé humaine et l'environnement* (DCE 2000).

Les NQE sont déterminées à partir des PNEC (Predicted No Effect Concentration), calculées pour les organismes aquatiques (PNEC aqua), les organismes benthiques (PNEC sédiment, effets via les sédiments) et pour les organismes prédateurs supérieurs (PNEC empoisonnement secondaire, effets via l'ingestion d'organismes contaminés) (Creusot 2011). Toutes les PNEC dans l'eau sont déterminées sur la fraction dissoute.

4 Programme de surveillance des polluants dans les milieux aquatiques

Dans le but d'améliorer l'état de santé des écosystèmes aquatiques, des dispositifs législatifs ont été mis en place pour surveiller la contamination des milieux aquatiques par les polluants chimiques. Ces dispositions ont également pour objectif de réduire l'exposition des populations humaines et animales à ces substances chimiques.

4.1 Directive cadre sur l'eau (DCE)

La directive cadre sur l'eau (DCE) est une directive européenne du parlement européen et du conseil adoptée le 23 octobre 2000 (DCE 2000). Elle a pour but de prévenir et de réduire la pollution de l'eau, promouvoir son utilisation durable, protéger l'environnement, améliorer l'état écologique et chimique des écosystèmes aquatiques et atténuer les effets des inondations et des sécheresses.

L'état écologique est représenté par des éléments biologiques (ex : phytoplancton, macro algues...), physico-chimiques (ex : température, oxygène dissous...) et hydro morphologiques (ex : la granulométrie) avec un seuil de référence établi pour chacun de ces éléments.

L'état chimique est défini à travers 45 substances prioritaires (Tableau 3) et repose sur les normes de qualité environnementale (NQE).

Tableau 3 : Substances prioritaires de la DCE (DCE 2013)

| Familles | Polluants |
|-----------------------|---|
| Pesticides | Alachlore, atrazine, chlorfenvinphos, éthyl-chlorpyrifos, diuron, endosulfan, hexachlorobenzène, hexachlorocyclohexane, isoproturon, pentachlorobenzène, pentachlorophénol, simazine, trifluraline, quinoxifène, aclonifène, bifénox, cibutryne, cyperméthrine, dichlorvos heptachlore et époxyde d’heptachlore, terbutryne, dicofol |
| Métaux lourds | Cadmium, mercure, nickel, plomb et les composés de ces métaux |
| Polluants industriels | Anthracène, benzène, C10-13-chloro-alcanes, chloroforme, 1,2-dichloroéthane, dichlorométhane, diphénylétherbromés, octylphénol, tributylétain, HAP, di (2-éthylhexyle) phthalate (DEHP), naphtalène, nonylphénols, fluoranthène, trichlorobenzène, hexachlorobutadiène, dioxines et composés de type dioxines, HBCDD, acide perfluorooctanesulfurique et ses dérivés (perfluoro-octanesulfonate PFOS) |

D’un point de vue analytique, initialement, la surveillance était imposée uniquement sur l’eau brute. Afin de tenir compte de l’affinité des polluants hydrophobes, des plans de surveillance ont été également mis en œuvre sur le biote (poissons et mollusques) lors de la révision de la DCE en 2013 (DCE 2013).

4.2 Etude prospective 2012 et arrêté du 7 août 2015

Au niveau français, le plan d’action national a pour but de lutter contre la pollution des milieux aquatiques (Plan Micropolluants) et prévoit, parmi ses activités, la mise à jour des listes de substances qui font l’objet d’une surveillance régulière.

Dans cette optique, une étude prospective a été réalisée en 2012 avec pour objectif d’améliorer les connaissances sur la présence des contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des Département et Région d’Outre-Mer (DROM) (Botta and Dulio 2014).

Cette étude a été diligentée par l’ONEMA (Office National de l’Eau et des Milieux Aquatiques) en 2012 en France métropolitaine et dans les DROM sur le suivi de substances émergentes non incluses dans les listes de surveillance réglementaire. Elle a été coordonnée par l’INERIS avec l’appui de divers organismes, notamment des laboratoires de recherche

universitaire pour les analyses physico-chimiques (EPOC-LPTC CNRS Université de Bordeaux, ISA CNRS Université de Lyon, IPREM CNRS Université de Pau, LHE Université Paris IV). Les résultats obtenus ont permis de dégager des tendances sur la présence de ces polluants dans les milieux naturels.

La liste des substances recherchées dans les eaux de surface (ESU) lors de l'étude prospective a été établie au sein d'un comité national [comité expert priorisation (CEP)] en collaboration avec le réseau NORMAN. Initialement, 2 400 molécules (dont 1 600 surveillées à ce jour) ont été sélectionnées. Elles ont ensuite été priorisées à l'aide d'un score établi en fonction de critères spécifiques (usages et propriétés de danger des substances en particulier).

Au total, 182 substances ont été retenues. Parmi ces contaminants, 100 molécules ont été recherchées dans la matrice eau, 134 dans la matrice sédiment, et 48 dans les 2 matrices. Trois campagnes de prélèvements ont été réalisées sur la matrice eau et une sur la matrice sédiment en périodes hydrologiques différentes sur un total de 158 points répartis sur l'ensemble du territoire métropolitain et DROM. Environ 400 résultats par substance ont été recensés sur la matrice eau et 150 sur la matrice sédiment.

De nombreuses familles de molécules ont été étudiées : les HAP et leurs produits de dégradation, les alkyles perfluorés, les plastifiants, les médicaments, les pesticides, les additifs d'essence, les antioxydants, les produits industriels et les produits de soins corporels.

Les résultats obtenus ont pu démontrer que 60 contaminants, sur 82 recherchés dans la matrice eau, ont été quantifiés au moins une fois dans les cours d'eau pendant les 3 campagnes de prélèvement et 23 l'ont été au moins une fois dans les plans d'eau (une seule campagne) en métropole. 21/60 polluants ont été retrouvés à des concentrations supérieures à leurs PNEC. Trois composés utilisés comme substances actives phytosanitaires et/ou comme biocides ont été analysés : l'acétochlore (herbicide récemment retiré du marché), la deltaméthrine (insecticide) et le triclosan (biocide présent dans des produits de large consommation comme les savons, les dentifrices...) ont été les plus souvent retrouvés à des concentrations dépassant leurs PNEC.

En ce qui concerne la matrice sédiment, 85/134 contaminants ont été quantifiés dans les cours d'eau et 59/134 dans les plans d'eau de la métropole. 50/85 polluants ont été retrouvés au moins une fois à des concentrations supérieures à leurs PNEC. Parmi ces molécules, 5 HAP, un surfactant (4-nonylphénol di-éthoxylate), un pesticide [terbutryne (pesticide interdit d'usage et qui fait partie de la nouvelle liste des substances prioritaires de la DCE (DCE 2013))] et un résidu de médicament (l'amiodarone) ont été les plus souvent retrouvés à des concentrations dépassant leurs PNEC.

Afin de renforcer la surveillance des milieux au niveau national et en se basant sur les résultats de l'étude prospective de 2012, le suivi régulier des substances émergentes a été inclus dans les programmes de surveillance régulière via l'arrêté du 7 août 2015 (Arrêté du 7 Août 2015).

4.3 Evolution des programmes de surveillance

Globalement, l'étude prospective de 2012 a démontré que de nombreuses substances, non surveillées ou non considérées dans la surveillance régulière, étaient présentes dans les milieux aquatiques.

En corrélation avec les analyses biologiques, notamment les études EDA, il a été démontré que certaines activités biologiques pouvaient être très faiblement expliquées par des analyses de composés ciblés incluant les polluants émergents (Creusot 2011). Cela indique que de nombreuses autres substances, non caractérisées ou oubliées, sont également responsables des effets perturbateurs constatés dans les milieux aquatiques.

Afin de pouvoir améliorer les connaissances sur la présence globale des polluants dans les milieux, il est donc important d'établir une base de connaissances sur une vaste gamme de substances toxiques et d'autres produits chimiques agissant comme polluants environnementaux et aquatiques. De plus, un programme de surveillance pour les métabolites et pour les produits de transformation doit être mis en place. Dans cette optique, des méthodes de « screening » doivent être développées dans les matrices pertinentes.

5 Etat de l'art des techniques analytiques de screening

L'analyse des composés organiques dans les milieux aquatiques à l'état de traces (voire d'ultra traces) nécessite des méthodes de préparation de l'échantillon. Cette étape peut être considérée comme une étape de concentration et de purification. Les composés d'intérêt sont ensuite séparés à l'aide de méthodes chromatographiques puis détectés par spectrométrie de masse. Grâce aux développements des appareils et des moyens analytiques, des niveaux de concentration très faibles (\sim ng/L voire inférieur) peuvent être atteints avec ce type de détection (Petrovic et al. 2010; Dinh et al. 2011; Müller et al. 2011; Dasenaki and Thomaidis 2015; Rubirola et al. 2017).

Le terme « screening » est utilisé pour désigner de nombreux procédés et de méthodes en chimie analytique. C'est une méthode utilisée pour détecter la présence de substances dans un échantillon. Lorsque des polluants déjà connus sont recherchés à partir d'une liste pré-établie, le terme de « screening » ciblé (« target screening ») est employé. Lorsque des substances inconnues sont recherchées, le terme de « screening » non ciblé (« non-target screening ») est utilisé.

La très grande diversité des propriétés physico-chimiques des composés organiques rend les analyses de « screening » assez complexes. Chaque procédé de préparation et d'analyse implique de tenir compte des propriétés physico-chimiques et donc de se limiter à certains critères de sélection (ex : polarité). Ainsi, aucune méthode ciblée de « screening » n'a pour objectif d'être la plus exhaustive possible mais leur but est de pouvoir analyser au mieux les substances visées (même si des méthodes multirésidus de composés pharmaceutiques ou de pesticides requièrent une certaine exigence d'exhaustivité). Cette approche est d'autant plus complexe en « screening » non ciblé car les analytes présents dans l'échantillon sont inconnus. Par conséquent, plusieurs méthodes adaptées et complémentaires permettant d'analyser une large gamme de composés doivent être employées.

Toutes les analyses par « screening » non ciblées dépendent des étapes de préparation (filtration, extraction au moyen d'un solvant, concentration/enrichissement sur phase solide...) et des conditions de la mesure. Pour des recherches non ciblées, il faut ouvrir autant que possible la fenêtre analytique afin d'être en mesure de détecter une large gamme de composés. Une préparation non spécifique des échantillons doit être appliquée pour que les résultats obtenus soit les plus fidèles possible à la composition réelle en

polluants de l'échantillon. Cela implique aussi, la présence et l'extraction éventuelle de substances interférentes.

L'analyse de polluants organiques repose essentiellement sur des méthodes chromatographiques, en phase gazeuse et en phase liquide, permettant la séparation individuelle des composés. Le couplage entre la chromatographie et la spectrométrie de masse (MS ou MS/MS), permet la détection de composés organiques à l'état de traces.

Pour les études de « screening » non ciblées, l'utilisation d'appareils hybrides est préférable. Il s'agit d'un spectromètre de masse associant deux types d'analyseurs différents dans le but de cumuler leurs avantages (Bouchoux and Sablier 2005a; Bouchoux and Sablier 2005b). Les avantages et les inconvénients de ces appareils seront détaillés dans le (chapitre 2 section 4.2).

5.1 Traitement de l'échantillon

Un échantillon contient les espèces recherchées (analytes) et le reste des composés, qui constituent dans leur ensemble ce qui peut être défini comme la matrice (Rouessac and Rouessac 2009). La plupart des échantillons nécessitent ainsi un prétraitement spécifique. C'est une étape importante mais qui peut nécessiter un temps relativement long. En effet, pour les analyses de traces, les composés ciblés se retrouvent parmi d'autres composés beaucoup plus abondants. Ainsi, la méthode de préconcentration doit être capable de récupérer/concentrer les substances d'intérêt tout en évitant, dans le domaine du possible, les effets de matrice. A ce titre, différentes techniques d'extraction sont employées.

L'Extraction sur Phase Solide (SPE) est couramment utilisée pour le traitement de l'échantillon. Le principe de cette technique repose sur la différence d'affinité entre une phase solide et une phase liquide (échantillon). Elle est employé pour isoler un ou plusieurs types d'analyte dans une solution (M. Farré et al. 2008). Elle est généralement utilisée pour une purification ou une préconcentration de l'échantillon avant une analyse chromatographique. Dans le cas des matrices aqueuses, elle permet d'obtenir un facteur de concentration des analytes, ce qui est indispensable pour détecter des traces. La principale difficulté analytique consiste souvent à devoir extraire simultanément des composés ayant des caractéristiques physico-chimiques très variées (polarités) sur un seul support (Pichon 2006). Pour les méthodes multirésidus, les enrichissements sont souvent limités par la

diversité des analytes présents dans l'échantillon. Par conséquent, une méthode seule d'extraction ne suffit pas pour piéger tous les composés inclus dans une méthode (Reemtsma et al. 2013a). De ce fait, l'injection directe de la solution dans la colonne chromatographique peut être préférée.

5.1.1 Injection directe

L'injection directe présente l'avantage d'éviter les discriminations et les pertes lors de l'analyse des échantillons. Toutefois, les analyses en injection directe ne sont pas aussi sensibles qu'avec une méthode incluant une préconcentration de l'échantillon. De plus, alors que les étapes de préconcentration permettent en partie d'éliminer les éléments matriciels, les interférents sont forcément injectés par ce mode d'analyse. Pour des matrices complexes, il est parfois nécessaire de rediluer l'échantillon afin de réduire les effets de matrices, ce qui réduit la sensibilité atteignable. L'injection directe d'échantillon aqueux s'applique exclusivement aux analyses par chromatographie en phase liquide.

L'utilisation de la SPE et de l'injection directe a été choisie par Loos et al. (2010) pour leurs études de composés organiques dans les eaux souterraines. Dans cette étude, pour les composés polaires et apolaires, les échantillons ont été préconcentrés par une extraction sur phase solide (SPE). Cependant, pour les composés très polaires, notamment les produits de dégradations de pesticides (ex : N,N'-Diméthylsulfamide, chloridazon-desphényl et chloridazon-méthylphényl), les méthodes conventionnelles de préparation d'échantillon telles que la SPE ou l'extraction liquide-liquide (LLE) ne pouvaient pas être appliquées. Les échantillons ont été injectés directement. Les résultats de leur recherche ont montré que les valeurs de limite de détection (LD) étaient beaucoup plus élevées lors de l'injection directe (LD = 50 ng/L). Pour les composés ayant subi un traitement au préalable (SPE), les valeurs de limites de détection étaient plus faibles ($0,1 \text{ ng/L} < \text{LD} < 1 \text{ ng/L}$).

5.1.2 Extraction sur Phase Solide (SPE)

Remarque : pour aider à la lecture dans le document, les 2 techniques d'extraction sur phase solide ont été différenciées en :

- ✓ SPE hors ligne ou en différée, pour désigner la SPE effectuée en cartouche .
- ✓ SPE en ligne, pour désigner la technique de préconcentration couplée directement à l'instrument analytique (LC-MS).

5.1.2.1 SPE hors ligne

La SPE hors ligne ou classique est la technique la plus couramment employée par de nombreux groupes de recherche pour les analyses multirésidus (Díaz et al. 2012; Diaz et al. 2013; Masiá et al. 2013; Robles-Molina et al. 2014). Les différentes étapes de la procédure SPE peuvent être contrôlées (vitesse de dépôt, lavage, élution...). Le passage de l'échantillon sur la cartouche est ainsi mieux maîtrisé. Cette technique offre également un meilleur contrôle de l'élution des composés ciblés et/ou des interférents potentiels.

En comparaison avec un système entièrement automatisé, l'extraction par SPE en ligne n'offre pas cette liberté permettant la maîtrise de toutes ces étapes.

Toutefois, la procédure d'extraction par SPE hors ligne présente l'inconvénient de nécessiter des étapes d'évaporation des solvants d'élution et de reprise des extraits, ce qui peut induire des pertes ou des contaminations. Afin de tenir compte de la diversité des propriétés physico-chimiques des polluants recherchés, le Tableau 4 présente différents exemples de phases SPE utilisées pour des analyses multirésidus.

Tableau 4: Synthèse des différentes méthodes d'extraction SPE hors ligne dans les matrices aqueuses pour des analyses multirésidus

| Références | Phases SPE | pH | Volume (mL) | Reconcentration (µL) | Composés étudiés |
|-----------------------------|---|---------|---|----------------------|--|
| (Nurmi and Pellinen 2011) | Strata -X Oasis MCX Strata - X-C Oasis HLB | 3 | 200 | 400 | 84 pesticides et produits pharmaceutiques |
| (Díaz et al. 2013) | Oasis HLB* Oasis MCX | nd 2 | 100 | 1000 | 150 composés organiques + leurs métabolites et les produits de transformations (antibiotiques, anti inflammatoires, analgésiques, autres médicaments, Triazine (herbicides)) |
| (Masiá et al. 2013) | Oasis HLB | nd | 200 | 1000 | 63 polluants (pesticides et/ou leurs produits de dégradations, produits pharmaceutiques). |
| (Gómez et al. 2010) | Oasis HLB | 8 | Eaux usées : 200 Eaux de rivière : 400 | 1000 | 400 produits pharmaceutiques et pesticides |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Oasis HLB | 7 | 200 | 1000 | Composés organiques (105 produits pharmaceutiques, produits de style de vie, 21 drogues et leurs métabolites, 279 pesticides et les métabolites, nitrosamines, retardateurs de flamme, plastifiants, perfluorés) |
| (Díaz et al. 2012) | Oasis HLB | nd | 50 | 1000 | Contaminants organiques, résidus et substances illicites (antibiotiques, drogues, stéroïdes, pesticides, produits pharmaceutiques) |
| (Hogenboom et al. 2009) | Oasis HLB + Oasis MCX | 2 | 1000 | 500 | Produits pharmaceutiques, drogues et métabolites, benzotriazole |
| (Nödler et al. 2010) | Oasis HLB Bond Elut Plexa AbsElut Nexus Bond Elut PPL Strata X Isolute ENV+ | 7 | 500 | 1000 | 46 composés acides, neutres et basiques (analgésiques, anti-inflammatoires, stimulants, antibiotiques, antihistaminiques, médicaments psychiatriques, inhibiteurs de corrosion et herbicides) |

| Références | Phases SPE | pH | Volume (mL) | Reconcentration (µL) | Composés étudiés |
|------------------------|--|-----|--|----------------------|--|
| (Loos et al. 2010) | Oasis HLB | nd | HLB : 950 Injection directe : nd | 500 | 59 composés organiques (produits pharmaceutiques, antibiotiques, pesticides et leurs produits de dégradations, acides perfluorés, benzotriazoles, hormones, alkyls phénols, caféine, diethyltoluamique et triclosan) |
| (Kovalova et al. 2009) | Isolute ENV ⁺ + autres cartouches ² | 6,3 | 50 | 200 | Cytostatiques et leurs métabolites |
| (Rodil et al. 2009) | Oasis HLB | 4,5 | - | 1000 | Herbicides, répulsifs, organophosphorés, retardateurs de flamme, produits pharmaceutiques et leurs produits de dégradation |
| (Ibáñez et al. 2009) | Oasis HLB | 2,5 | Eaux de surface : 200 Effluent d'eaux usées : 40 Influent d'eaux usées : 20 | 1000 | Antibiotiques |

² Oasis HLB (pH = 6,3), Strata X (pH = 6,3), Bond Elute Certify I (pH = 2), Accubond Evidex (pH = 2), SPEC MP1 (pH = 2), SPEC MP3 (pH = 2), Empore MPC-SD (pH = 2), Speedisk Narc-2 (pH = 2), Speedisk H2O-philic SC-DVB (pH = 2), Speedisk H2O-philic SA-DVB (pH = 11), Strata XC (pH = 2), Oasis MAX (pH = 11), Strata SAX (pH = 11)

5.1.2.1.1 Cartouches à rétention de phase inverse

La préconcentration sur des cartouches SPE de type Oasis HLB (Hydrophilic-Lipophilic-Balanced) est privilégiée pour les analyses multirésidus des polluants organiques (Hogenboom et al. 2009; Gómez et al. 2010; Díaz et al. 2012; Diaz et al. 2013; Masiá et al. 2013; Robles-Molina et al. 2014). Ce matériel polymérique est composé d'un copolymère hydrophile-lipophile permettant de retenir les composés semi-polaires et apolaires. Toutefois, pour la rétention des composés très hydrophiles (généralement ioniques), cette cartouche est limitée (Meritxell Gros et al. 2006).

Un autre type de cartouche SPE (Nurmi and Pellinen 2011), la Strata-X (Phenomenex), ayant une surface spécifique similaire à l'Oasis HLB (800 m²/g), est également couramment utilisée (Pichon 2006). Elle est composée d'un copolymère (styrène-divinylbenzène), modifié en surface, lui permettant de mieux retenir les composés aromatiques et polaires.

Hormis les cartouches HLB et Strata-X, il existe de nombreuses cartouches SPE fonctionnant en mode de phase inverse. Des phases de type C8 ou C18 permettent également la rétention de composés possédant des groupements hydrophobes. Certaines études ont comparé les performances d'extraction de plusieurs cartouches (Tableau 5).

Tableau 5 : Etudes ayant comparées différentes cartouches SPE à phase inverse

| | (Nödler et al. 2010) | (Kampioti et al. 2005) |
|-----------------------|----------------------|-----------------------------|
| Cartouches SPE | Oasis HLB | Hysphere C ₁₈ |
| | Bond Elut Plexa | Hysphere C ₁₈ HD |
| | AbsElut Nexus | Hysphere C ₂ |
| | Bond Elut PPL | Hyphere Resin GP |
| | Strata X | PLRPS-s |
| | Isolute ENV+ | |

Pour l'analyse multirésidus de l'étude menée par Nödler et al. (2010), la cartouche Oasis HLB a été déterminée comme le meilleur choix parmi les six cartouches testées car elle permet d'extraire dans des matrices aqueuses les composés de polarités variées avec les meilleurs rendements. En ce qui concerne, l'étude des pesticides menée par Kampioti et al. (2005), les meilleurs résultats ont été obtenus avec les cartouches polymériques Hyphere Resin GP (polydivinyle-benzène) et PLRPS-s (styrène-divinylbenzène) car leurs compositions en polymère a permis de retenir une plus large gamme de composés aux propriétés différentes.

Pour l'analyse de 150 composés organiques et leurs produits de transformations (Tableau 4), une étude a rapporté que l'Oasis HLB offrait de meilleurs résultats par rapport à l'Oasis MCX (Diaz et al. 2013). Parmi toutes les substances extraites, un seul produit pharmaceutique (gabapentine) n'a pas été retenu sur le support Oasis HLB. A pH non ajusté, ce composé est sous forme ionique, il n'a donc aucune rétention avec la phase Oasis HLB, tandis qu'à pH=2, le groupement acide est neutre et le groupement basique est protoné (cation). Ainsi, il a une meilleure rétention avec le groupement sulfonate de l'Oasis MCX. Toutefois, plusieurs composés (oxilinic, nalidixic...) n'ont pas été extraits à pH=2 avec la cartouche Oasis MCX. D'après cette étude, il ne semble pas nécessaire d'utiliser deux cartouches en série. Une seule cartouche suffit pour extraire la majorité des composés.

L'Oasis HLB et la Strata-X font parties des cartouches les plus couramment employées. Elles sont bien adaptées pour l'extraction de composés généralement dans une gamme de log K_{OW} comprise entre 0 et 8. Les taux de rendements peuvent être améliorés (Rodil et al. 2009), pour les molécules présentant des groupements ionisables, en fixant le pH afin de pouvoir obtenir ces molécules sous forme neutre. Un pH acide (Ibáñez et al. 2009; Hug et al. 2014) ou neutre (Nödler et al. 2010; Robles-Molina et al. 2014) a été également déterminé bénéfique pour l'extraction sur des cartouches Oasis HLB.

Cependant, pour des composés ayant une polarité plus marquée ($\log K_{OW} < 0$), l'utilisation de ces cartouches présente certaines limites (Huntscha et al. 2012) avec de faibles taux de rendement obtenus ($R < 40\%$).

5.1.2.1.2 Cartouches à rétention « mixed-mode »

Certaines substances très polaires ($\log K_{OW} < 0$) présentent la propriété de s'ioniser à différents pH [en fonction de leurs différents groupes fonctionnels (acides ou basiques faibles)] ou d'être sous forme ionique quel que soit le pH (acides ou bases forts). Pour cela, des cartouches « mixed-mode » ont été conçues. Elles sont composées d'une partie hydrophobe, d'une partie hydrophile et d'un groupement spécifique permettant l'extraction des composés ioniques hydrophiles. Ces différentes cartouches à rétention « mixed-mode » ont été employées pendant ces travaux de thèses. Leurs principes de fonctionnement et leurs structures sont présentés en section 3.1.3.2 du chapitre 2.

Dès lors, en fonction des différentes cartouches et du pH (Nurmi and Pellinen 2011), l'utilisation de supports imprégnés de groupements ioniques permet la rétention de ce type de composés.

5.1.2.1.3 Cartouches en série

Pour l'analyse simultanée des composés polaires, apolaires et ioniques, plusieurs stratégies ont été recensées.

L'utilisation de cartouches en série a permis d'extraire un grand nombre de composés aux propriétés variées. L'emploi d'une cartouche en phase inverse (Oasis HLB ou Strata -X) et d'une cartouche échangeuse de cation (Oasis MCX, Strata - X-C) a ainsi fait l'objet de plusieurs études (Hogenboom et al. 2009; Nurmi and Pellinen 2011; Diaz et al. 2013).

Nurmi & Pellinen (2011) ont procédé aux extractions en faisant varier différents paramètres, tels que le pH (6,5 et 3) ou la combinaison de plusieurs cartouches. Selon leurs résultats, l'utilisation en série d'une première cartouche « mixed-mode » (Oasis MCX) et d'une seconde cartouche en phase inverse (Strata-X) en milieu acide (pH = 3) permet d'obtenir l'extraction la plus performante. Le pH acide de l'échantillon favorise l'extraction des acides carboxyliques (car ils sont sous forme neutre) et des composés avec des groupements aromatiques (grâce à la partie phase inverse, Strata-X). Les composés basiques, tels que les amines, sont retenus par interactions ioniques (Oasis MCX).

Dans l'étude de Kovalova et al. (2009), plusieurs cartouches ont été évaluées (Tableau 4). A pH = 6,3³, les cartouches en phase inverse (Isolute ENV⁺, Oasis HLB, Strata X) ont été utilisées pour retenir les composés apolaires. A pH = 2⁴, les cartouches à échanges cationiques (Bond Elute Certify I, Accubond Evidex, SPEC MP1, SPEC MP3, Empore MPC-SD, Speedisk Narc-2, Speedisk H₂O-philic SC-DVB, Strata XC) ont été utilisées pour extraire les composés basiques. A pH = 11⁵, les cartouches à échanges anioniques (Oasis MAX, Speedisk H₂O-philic SA-DVB, Strata SAX) ont été employées pour extraire les composés acides. Les résultats de ces travaux ont montré que l'Isolute ENV⁺ offrait de meilleurs rendements par rapport à l'Oasis

³ Oasis HLB (pH = 6,3), Strata X (pH = 6,3), Bond Elute Certify I (pH = 2), Accubond Evidex (pH = 2), SPEC MP1 (pH = 2), SPEC MP3 (pH = 2), Empore MPC-SD (pH = 2), Speedisk Narc-2 (pH = 2), Speedisk H₂O-philic SC-DVB (pH = 2), Speedisk H₂O-philic SA-DVB (pH = 11), Strata XC (pH = 2), Oasis MAX (pH = 11), Strata SAX (pH = 11)

⁴ pH ajusté avec de l'acide formique

⁵ pH ajusté avec de l'acide chlorhydrique

HLB. Les combinaisons entre l'Isolute ENV⁺ avec la cartouche à échange anionique Speedisk (Speedisk H₂O-philic SA-DVB) (pH = 11,2) ou la cartouche à échange cationique Speedisk Narc-2 (pH = 1,3) ont été testées. L'utilisation de l'Isolute ENV⁺, puis de la cartouche Speedisk à échange anionique, s'est avérée être la meilleure option. A pH = 11, les composés basiques sont retenus sur l'Isolute ENV⁺. Les composés acides sont eux sous formes déprotonés et sont fixés sur la phase d'échange anionique.

5.1.2.1.4 Cartouche multicouche

L'utilisation de cartouches mixant différentes phases pour le développement de méthodes d'analyses multirésidus a été également employée. En effet, ce type de cartouche permet de combiner les modes de rétention en phase inverse et d'échanges d'ions en une seule cartouche (Polesello and Quevauviller 2014). Elle peut être utilisée pour extraire les composés neutres, acides et basiques, d'une seule matrice.

Cette stratégie a été développée par des chercheurs suisses (Kern et al. 2009; Schymanski et al. 2014; Moschet et al. 2017). La cartouche était composée de 200 mg d'Oasis HLB et d'un mélange formé de :

- ✓ 100 mg de Strata X-AW (Phenomenex) permettant la rétention des acides forts (pka < 1). C'est une cartouche à échange d'anions faibles.
- ✓ 100 mg de StrataX-CW (Phenomenex) permettant la rétention des bases fortes et des amines quaternaires (pka > 10). C'est une cartouche à échange de cations faibles.
- ✓ 150 mg de Isolute ENV+ (Biotage). Cette phase est complémentaire à l'Oasis HLB car elle permet la rétention des composés organiques polaires à de très faibles pH. Cette cartouche peut également retenir les produits pharmaceutiques neutres à pH = 7 (ex : carbamazépine) (Mertitxell Gros et al. 2006).

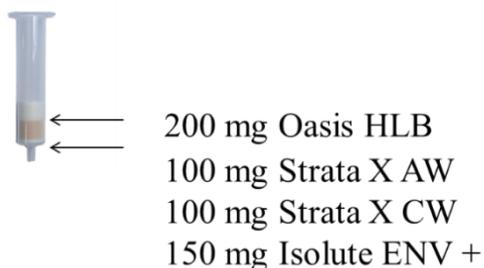


Figure 9 : Schéma d'une cartouche multicouche

Le principe de fonctionnement et la structure des cartouches à échange de cations et d'anions faible est présenté dans le chapitre 2 en section 3.1.3.2.1 et 3.1.3.2.2.

Le rapport des différentes phases est de 1/1/1,5 (X-AW/X-CW/ENV+). Leur stratégie consistait à piéger à pH = 6,7 dans un premier temps les molécules neutres ou de polarité moyenne, à l'aide de la phase Oasis HLB. Dans un second temps, la phase mixte (X-AW/X-CW/ENV +) était utilisée pour extraire tous les composés qui n'étaient pas extraits par la cartouche Oasis HLB.

5.1.2.2 SPE en ligne

La SPE en ligne est une approche qui lie la partie préconcentration d'échantillon à la partie analyse (plus particulièrement en chromatographie en phase liquide). Cette technique a été développée et utilisée dans les années 90 (Brouwer et al. 1990; R van der Wal et al. 1994). Le couplage en ligne de cette méthode d'extraction avec la chromatographie en phase liquide s'est considérablement développé, ces dernières années, avec la commercialisation de systèmes automatisés (Pichon 2006). De ce fait, cette méthode de préconcentration a été de plus en plus employée pour analyser des échantillons aqueux (Wells and Zhou Yu 2000; Rodriguez-Mozaz et al. 2007; Wode et al. 2012; Togola et al. 2014; Satinsky et al. 2015; Goh et al. 2016).

C'est une technique automatisée qui permet d'obtenir des méthodes d'analyse plus rapides en réduisant les nombreuses étapes de préparation d'échantillon effectuées en SPE hors ligne. Elle permet d'éviter de rediluer l'échantillon car tous les composés piégés par la cartouche sont directement transférés vers la colonne chromatographique (Kampioti et al. 2005; Wode et al. 2012). Elle permet également de réduire la quantité d'échantillons. Ainsi, de faibles volumes sont extraits grâce à cette technique. A titre d'exemple, Grignon et al. (2016) ont extrait 30 μL tandis qu'Yao et al. (2016) ont utilisé 5 mL contre généralement entre 100 mL et quelques litres pour la SPE hors ligne. Le volume d'échantillon peut être

chargé en fonction de la taille de la boucle d'injection. Si des volumes d'injection supérieurs au volume de la boucle doivent être injectés, cette dernière peut être chargée plusieurs fois, comme dans le cas de Goh et al. (2016), avec une double injection (2*2,5 mL). Par ailleurs, les méthodes de SPE en ligne offre la possibilité d'automatisation et la capacité de traiter un nombre élevé d'échantillons (M. Farré et al. 2008).

Plusieurs phases en SPE en ligne sont disponibles, de natures identiques ou différentes à celles disponibles à la SPE hors ligne. Ainsi, des cartouches composées de phases avec des rétentions en phase inverse ont été employées (Tableau 6). Cette phase peut être un polymère (TurboFlow CycloneTM Columns) (Zhu et al. 2016), de la C18 (Grignon et al. 2016) ou un co-polymère (Oasis HLB) (Shoemaker 2016). Néanmoins, la principale difficulté est de piéger les composés ioniques sur ces supports. Des études bibliographiques ont montré que l'HySphere PICO C8-SE a été capable de retenir les acides forts (alkyles perfluorés) (Yu et al. 2017). Pour les analyses multirésidus, la cartouche la plus employée, et offrant les meilleures performances, a été l'Oasis HLB (Petrović et al. 2003; Togola et al. 2014; Shoemaker 2016). Comparé à la SPE hors ligne, très peu de revues bibliographiques existent sur les analyses multirésidus [nombre de composés (> 100)] en SPE en ligne. Cotton et al. (2016) ont développé une méthode permettant d'extraire environ 500 molécules sur une cartouche Oasis HLB (500 pesticides et produits pharmaceutiques).

Tableau 6: Synthèse des différentes techniques d'extraction SPE en ligne dans les matrices aqueuses (n.d : non déterminé)

| Références | Modèle | pH | Volume (mL) | Composés étudiés |
|------------------------|---|----|--------------|--|
| (Kampioti et al. 2005) | Hysphere C ₁₈ EC Hysphere C ₁₈ HD Hysphere C ₂ HD Hysphere Resin GP* PLRP-s* | Nd | 20 | 20 pesticides (triazines, organophosphates, phénylurées, anilines, acide, propanil, molinate) |
| (Huntscha et al. 2012) | Oasis HLB + Cartouche mixte ⁶ | 7 | 20 | 88 polluants (pesticides, biocides, produits pharmaceutiques, inhibiteur de corrosion et leurs produits de transformations, édulcorants) |
| (Wode et al. 2012) | nd | nd | 1 | 72 polluants (antalgiques, antiépileptiques, antihypertenseurs, psychotropes, retardateurs de flamme, pesticides) |
| (Togola et al. 2014) | Oasis HLB | - | 0,5 | 18 pesticides et leurs métabolites 17 produits pharmaceutiques et leurs métabolites |
| (Shoemaker 2016) | Oasis HLB | - | Entre 2 et 5 | 7 pesticides |
| (Cotton et al. 2016) | Oasis HLB | 3 | 5 | 500 pesticides et médicaments |

⁶ pH ajusté avec de l'ammoniac

Pour les extractions en SPE en ligne, certaines cartouches ioniques sont disponibles. Toutefois, l'emploi de ces cartouches requiert une élution avec une solution basique ou acide. L'utilisation d'un ou de plusieurs solutions d'élutions est beaucoup plus simple à mettre en œuvre en SPE hors ligne. En revanche, pour les extractions en SPE en ligne, d'après les ressources bibliographiques, le gradient chromatographique est souvent utilisé pour l'élution des composés en mode « backflush » (à contre sens) après leur concentration sur la cartouche SPE (Heuett et al. 2015). Par conséquent, il est instrumentalement plus difficile d'utiliser plusieurs phases contenant différent ajout (acide et/ou basique) pour l'élution en SPE en ligne.

L'extraction d'une large gamme de composés et plus spécifiquement des composés polaires a été réalisée sur une cartouche multicouche de nature identique à celle utilisée en SPE hors ligne (Huntscha et al. 2012). Elle est composée :

- ✓ d'une phase Oasis HLB.
- ✓ d'un mélange de phases composé d'une phase à échangeuse de cations faibles (Strata X-CW), d'une autre phase échangeuse d'anions faibles (Strata X-AW) et d'une phase complémentaire à l'Oasis HLB permettant la rétention des composés polaires (Isolute ENV+).

Dans cette étude, une cartouche SPE a été préparée par le remplissage d'une cartouche vide avec 10 mg d'Oasis HLB comme premier matériel et un mélange de 10 mg comme second matériel composé de Strata X-AW, X-CW et d'Isolute ENV +.

Dans cette méthode, une élution avec du méthanol, contenant 0,1 % d'acide formique, a été réalisée avec un débit de 30 $\mu\text{L}/\text{min}$ pendant sept minutes. Le méthanol a été ensuite dilué avec une phase aqueuse (H_2O + 5 mM d'acétate d'ammonium) à l'aide d'une pompe additionnelle.

Ce dispositif a permis d'analyser 88 composés polaires organiques dans différentes matrices aqueuses (eaux de surface, eaux usées et eaux souterraines).

5.1.2.3 Extraction Liquide/Liquide (LLE)

L'Extraction Liquide/Liquide (LLE) a été utilisée dans l'étude de Gómez et al. (2009) pour l'analyse des produits de soin corporel dans les eaux résiduaires et les eaux de rivières. 500 mL de chaque échantillon ont été extraits en 2 étapes, en utilisant respectivement 100 et 50

mL d'hexane pour la première et la seconde extraction. Tous les échantillons ont été ajustés à pH=3.

Cette méthode est particulièrement employé pour l'analyse de l'eau brute (eau non filtrée). Ce type d'extraction est plus contraignant à mettre en œuvre et requiert une quantité importante de solvant. De plus, des solvants apolaires sont utilisés pour cette technique, favorisant ainsi l'extraction des composés hydrophobes. Cette technique n'est pas totalement adaptée pour retenir les composés hydrophiles.

Pour cette étude, qui vise exclusivement l'analyse de l'eau filtrée, seule les procédures SPE seront étudiées

5.1.2.4 Conclusions méthodologiques

L'extraction des composés d'intérêt d'un échantillon est une étape clé qui a un impact important sur le résultat de l'analyse. Dans le cadre des échantillons d'une matrice aqueuse, la SPE, hors ligne ou en ligne, est généralement employée car elle permet de combiner l'obtention de bonnes performances avec une facilité et rapidité d'utilisation.

Un « screening » ciblé est réalisé lorsqu'on a connaissance des analytes qui sont visés. Ainsi, le choix des supports extractants est généralement orienté, soit vers une phase de type Oasis HLB (si plusieurs familles avec un spectre large de propriétés physico-chimiques sont visées simultanément), soit vers des cartouches comprenant des groupements spécifiques (ioniques par exemple) pour l'extraction de composés avec des groupements acides ou basiques.

Pour réaliser du « screening » non ciblé dans les matrices aqueuses, la principale difficulté réside dans l'application de plusieurs techniques de préparation de l'échantillon complémentaires permettant d'extraire au mieux les composés présents. L'enjeu est d'éliminer un maximum d'interférents sans pour autant supprimer les analytes. Cependant, quelle que soit la technique extraction appliquée, la préparation de l'échantillon est une étape sélective.

Pour les analyses multirésidus et les analyses en mode non ciblé, en raison de la diversité des paramètres physico-chimiques des polluants environnementaux, la cartouche Oasis HLB ne permet pas l'extraction efficace de composés très polaires ($\log K_{ow} < 0$). L'utilisation de

plusieurs cartouches en série ou des cartouches mixtes peut permettre d'envisager l'extraction d'un maximum d'analytes en une ou plusieurs étapes.

5.2 Séparation

Suite à l'étape du traitement de l'échantillon, une étape séparative des composés d'intérêt doit être mise en œuvre afin de pouvoir séparer les contaminants présents dans les échantillons. Pour cela, les techniques chromatographiques sont employées. Elles regroupent différents modes de séparation en fonction de la nature et des propriétés physico-chimiques des composés à séparer. On distingue essentiellement la chromatographie en phase liquide (LC) et la chromatographie en phase gazeuse (GC). La Figure 10 montre que pour la séparation des composés hydrophiles, la LC est souvent employée. Pour la séparation des composés hydrophobes, la GC est utilisée.

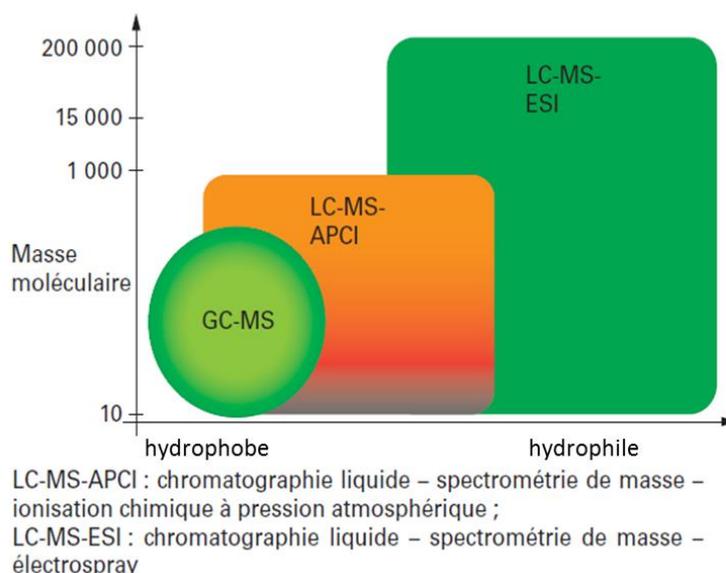


Figure 10 : Application de différentes techniques de séparation (Polesello and Quevauviller 2014)

5.2.1 Chromatographie en phase liquide à ultra haute performance (UHPLC)

Jusqu'à la fin des années 1990, l'analyse de traces dans les échantillons aqueux par chromatographie en phase liquide a été limitée par la sensibilité et la sélectivité faible de ses détecteurs (détecteurs UV, détecteur à barrette de diodes, détecteurs à fluorescence) (M. Farré et al. 2008). Grâce à l'arrivée et aux évolutions des sources d'ionisation à pression atmosphérique (API), le couplage entre la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse (LC-MS) a permis de développer des techniques permettant l'analyse des composés polaires à l'état de traces dans les échantillons aqueux. En comparaison avec la GC, les méthodes en LC offrent deux avantages :

- ✓ la préparation d'échantillon est allégée car aucune étape de dérivation n'est nécessaire pour les composés polaires. En effet, pour analyser les composés polaires en GC, une étape de dérivation est souvent nécessaire pour rendre ces molécules plus volatiles.
- ✓ la LC permet d'injecter des échantillons aqueux directement dans le système chromatographique.

La majorité des composés extraits dans les matrices aqueuses, particulièrement dans la fraction dissoute, sont semi-polaires, polaires, voire très polaires. De ce fait, la séparation de ces composés est réalisée par chromatographie en phase liquide à ultra haute performance (UHPLC) (Figure 10). D'après les données bibliographiques, 2 types de colonnes peuvent être principalement distingués : les colonnes à rétention de phase inverse de type C18 et les colonnes HILIC (Tableau 7).

5.2.1.1 Colonnes à rétention de phase inverse

Dans la totalité des études recensées, des colonnes C18 ont généralement été utilisées pour les analyses ciblées, multirésidus ou non ciblées (Tableau 7). Certains groupes ont utilisé des colonnes courtes (5 cm) pour l'analyse multirésidus d'un nombre important de composés (environ 400) (Gómez et al. 2010; Robles-Molina et al. 2014). Robles-Molina et al. (2014) ont ainsi employé une Zorbax Eclipse Plus C18 pour la séparation de composés organiques de différentes classes (105 produits pharmaceutiques, 21 drogues et leurs métabolites, 279 pesticides et les métabolites, nitrosamines, retardateurs de flamme, plastifiants, perfluorés). Bien que leurs travaux ne ciblaient la séparation que d'un nombre réduit de composés (entre 20 et 70), de nombreux groupes de recherche ont toutefois privilégié l'utilisation de colonnes plus longues (10 à 20 cm) (Kampioti et al. 2005; Wode et al. 2012; Masiá et al. 2013).

Tableau 7 : Synthèse de différentes colonnes C18 utilisées en chromatographie en phase liquide (LC)

| Référence | Colonne | Composés |
|-----------------------------|---|---|
| (Masiá et al. 2013) | Luna C ₁₈ (15 cm*2,1 mm, 3 µm) <i>Phenomenex</i> Acquity UPLC BEH C ₁₈ (100 mm*2,1 mm, 1,7 µm) <i>Waters</i> | 63 polluants (pesticides et/ou leurs produits de dégradations, produits pharmaceutiques, médicaments). |
| (Kampioti et al. 2005) | Purospher STAR-RP-18e (125 mm*2 mm, 5µm) <i>Merck</i> | 20 pesticides (triazines, organophosphates, phenylurées, anilines, acide, propanil, molinate) |
| (Gómez et al. 2010) | XDB-C ₁₈ (50 mm*4,6 mm, 1,8 µm) <i>Agilent Technologies</i> Accucore RP-MS core-shell column (50 mm*2,1 mm, 2,6 µm) <i>Thermo Fisher Scientific</i> | 400 polluants émergents (pesticides, produits pharmaceutiques...) |
| (Wode et al. 2012) | Kinetex core-shell C ₁₈ column (50 mm*2,1 mm, 1,7µm) <i>Phenomenex</i> | 72 polluants (antalgique, antiépileptique, antihypertenseur, psychotrope, retardateurs de flamme, pesticides) |
| (Diaz et al. 2013) | Acquity UPLC BEH C ₁₈ (100 mm*2,1 mm, 1,7 µm) <i>Waters</i> | 150 composés organiques + leurs métabolites et les produits de transformations (antibiotique, anti inflammatoire, analgésique, médicaments, Triazine (herbicides)) |
| (Huntscha et al. 2012) | Atlantis T3 column (150 mm*3 mm, 3 µm) <i>Waters</i> | 88 polluants (pesticide, biocides, produits pharmaceutiques, inhibiteur de corrosion et leurs produits de transformations, édulcorants) |
| (Robles-Molina et al. 2014) | ZORBAX Eclipse Plus C ₁₈ (50 mm * 4,6 mm, 1,8 µm) <i>Agilent</i> | Composés organiques (105 produits pharmaceutiques, produits de style de vie, 21 drogues et leurs métabolites, 279 pesticides et les métabolites, nitrosamines, retardateur de flamme, plastifiant, perfluoré) |
| (Nurmi and Pellinen 2011) | Acquity UPLC BEH C ₁₈ column (100 mm* 2,1 mm, 1,7 µm) <i>Waters</i> | 84 pesticides et produits pharmaceutiques |
| (Reemtsma et al. 2013b) | Synergy Fusion-RP 100A (50 mm * 2,0 mm; 2,5 µm) <i>Phenomenex</i> | 150 métabolites de pesticides |
| (Díaz et al. 2012) | Acquity C ₁₈ (BEH 150 mm * 2,1 mm; 1,7 µm) <i>Waters</i> | 150 contaminants organiques, résidus et substances illicites (antibiotiques, drogues, stéroïdes, pesticides, produits pharmaceutiques) |

| Référence | Colonne | Composés |
|-------------------------|---|---|
| (Hug et al. 2014) | Core shell C ₁₈ column (100 mm * 3 mm; 2,6 µm) <i>Phenomenex</i> | - |
| (Hogenboom et al. 2009) | Omnisphere C ₁₈ (100 mm*2,0 mm; 3 µm) <i>Varian-Chrompack</i> | Produits pharmaceutiques, drogues et métabolites, benzotriazole |
| (Nödler et al. 2010) | Polaris C ₁₈ -Ether column (150 mm * 2 mm; 3µm) <i>Varian</i> | 46 composés acides, neutres et basiques (analgésiques, anti-inflammatoires, stimulants, antibiotiques, antihistaminique, médicament psychiatrique, inhibiteur de corrosion et herbicides) |
| (Loos et al. 2010) | HSS C18 (100 mm * 2,1 mm; 1,8 µm) <i>Waters</i> BEH Shield C18 (50 mm * 2,1 mm; 1,8 µm) <i>Waters</i> ESI (+): Symmetry Shield RP18 (150 mm * 2,1 mm; 3,5 µm) <i>waters</i> ESI (-): Luna Phenyl-Hexyl (150 mm * 2 mm; 3 µm) <i>Phenomenex</i> | 59 composés organiques (produits pharmaceutiques, antibiotiques, pesticides et leurs produits de dégradations, acides perfluorés, benzotriazoles, hormones, alkyls phénols, caféine, diethyltoluamique et triclosan) 53 herbicides, répulsifs, organophosphorés, retardateurs de flamme, produits pharmaceutiques et leurs produits de dégradation |
| (Ibáñez et al. 2005) | Acquity UPLC BEH C18 (50 mm * 2,1 mm; 1,7 µm) <i>Waters</i> | Antibiotiques |
| (Souchier et al. 2014) | Xterra C18 (150 mm * 2,1 mm ; 3,5 µm) <i>Waters</i> | Triclocarban et ses produits de dégradations |

Pour l'étude de Rodil et al. (2009), des colonnes chromatographiques différentes ont été employées selon le mode d'ionisation [ESI (+) ou ESI (-)]. En effet, pour l'analyse des composés en mode positif, la colonne Symmetry Shield RP18 (2,1 mm * 150 mm ; 3,5 µm) a été choisie. Pour l'analyse des composés en mode négatif, une colonne avec des groupements phényles [Luna Phenyl-Hexyl (2 mm * 150 mm ; 3 µm)] a été privilégiée. La longueur de la colonne influence la séparation des composés et la pression du système analytique. Plus une colonne sera longue et plus les composés seront mieux séparés. La pression augmente proportionnellement avec la longueur de colonne.

Les temps d'analyses chromatographiques sont différents, d'inférieurs à 20 minutes (Nurmi and Pellinen 2011; Díaz et al. 2012; Wode et al. 2012; Masiá et al. 2013) à supérieurs à 40 min (entre 40 et 50 min) (Kampioti et al. 2005; Hogenboom et al. 2009; Hug et al. 2014). Le temps d'analyse a une influence sur la séparation des composés. Ainsi, un temps d'analyse très long favorise une meilleure séparation des analytes présents dans le mélange.

La température de chauffage des colonnes est assez homogène (entre 30 et 40 °C) (Wode et al. 2012; Masiá et al. 2013). Dans l'étude de Díaz et al. (2012), la température de la colonne a été fixée à 60 °C. La température influence essentiellement la viscosité de la phase mobile. Ainsi, une température élevée a tendance à faire diminuer la pression du système chromatographique.

Les phases mobiles fréquemment utilisées sont l'eau MilliQ avec l'ajout de formate d'ammonium, d'acétate d'ammonium ou d'acide formique. Les solvants organiques sont l'acétonitrile (ACN) ou le méthanol (MeOH) pour les analyses sur les supports C18. Certains chercheurs ont choisi une phase mobile en fonction du mode d'ionisation désiré (Hogenboom et al. 2009; Nurmi and Pellinen 2011). A titre d'exemple, pour obtenir une meilleure ionisation des composés en mode positif, Hogenboom et al. (2009) ont utilisé une phase mobile acide pour favoriser la protonation des composés (ajout d'ions H⁺). En mode négatif, une phase mobile basique en formate d'ammonium a été employé pour aider la déprotonation des molécules.

L'optimisation des phases organiques et aqueuses a été évaluée dans plusieurs travaux (Nurmi and Pellinen 2011; Reemtsma et al. 2013a). Les phases mobiles utilisées dans ces

études sont présentées Tableau 8 et Tableau 9 . Les molécules et les colonnes étudiées sont fournies Tableau 7.

Tableau 8 : Phases mobiles utilisées lors des différentes expériences par Nurmi & Pellinen (2011)

| Expérience | Phase mobile |
|------------|--|
| (1) | A : Eau Milli-Q + 0,1 % d'acide formique B : MeOH + 0,1 % d'acide formique |
| (2) | A : Eau Milli-Q + 0,1 % d'acide acétique B : MeOH + 0,1 % d'acide acétique |
| (3) | A : Eau Milli-Q + 5 mM d'acétate d'ammonium B: MeOH + 5 mM d'acétate d'ammonium |
| (4) | A : Eau Milli-Q + 0,3 % de NH ₃ B : MeOH + 0,3 % de NH ₃ |
| (5) | A : Eau Milli-Q + 5 mM de NH ₄ CO ₃ B: MeOH + 5 mM de NH ₄ CO ₃ |

Nurmi & Pellinen (2011) ont choisi d'utiliser une phase mobile en fonction du mode d'ionisation. En ESI (+), le solvant A est composé d'eau Milli-Q + 5 mM ammonium bicarbonate (pH = : 9,5)⁷ et le solvant B est composé de MeOH. En ESI (-) le solvant A est composé d'eau Milli-Q + 0,05 % acide acétique et le solvant B est composé de MeOH + 0,05 % acide acétique.

Tableau 9 : Phases mobiles utilisées lors des différentes expériences par Reemtsma et al. (2013a)

| Expérience | Phase mobile |
|------------|--|
| (1) | A : Eau Milli-Q/ MeOH (90/10) + 0,02 % (35mM) d'acide acétique (pH = 3,1) B : Eau Milli-Q/ MeOH (10/90) + 0,02 % (35mM) d'acide acétique |
| (2) | A : Eau Milli-Q/ MeOH (90/10) + 0,2 % (3,5mM) d'acide acétique (pH = 3,6) B : Eau Milli-Q/ MeOH (10/90)) + 0,2 % (35mM) d'acide acétique |
| (3) | A : Eau Milli-Q/ MeOH (90/10) + 0,2 % (35mM) d'acide acétique et (5,2 mM) d'acétate d'ammonium (pH = 4,1) B : Eau Milli-Q/ MeOH ((10/90) + 0,2 % (35mM) d'acide acétique et (5,2 mM) d'acétate d'ammonium |

⁷ pH ajusté ac NH₃ (aq)

Selon l'étude de Reemtsma et al. (2013), un mélange H₂O/MeOH (90/10) et H₂O/MeOH (10/90) avec l'ajout de 0,2 % d'acide acétique dans chaque phase offrait de meilleurs résultats.

Des petits volumes d'injection ont été généralement utilisés [entre 5 µL (Masiá et al. 2013) et 20 µL (Gómez et al. 2010)]. Des études bibliographiques ont cependant montré que des injections en large volume (100 µL) ont également été utilisées (Nödler et al. 2010; Reemtsma et al. 2013a). Les conditions chromatographiques détaillées et employées par ces différents groupes, ont été répertoriées dans l'Annexe 1.

5.2.1.2 Colonnes de type HILIC

La chromatographie en phase liquide d'interaction hydrophile (HILIC) est une technique permettant la rétention et la séparation des composés hydrophiles polaires, qui sont souvent difficiles à retenir sur des colonnes de type C18 (chromatographie en phase inverse). La HILIC utilise une phase stationnaire polaire associée à une phase mobile aqueuse organique, contenant généralement un pourcentage élevé du composant organique (généralement > 60 % d'ACN). L'eau est un puissant solvant, et contrairement à la chromatographie en phase inverse, l'augmentation du pourcentage d'eau dans la phase mobile diminue la rétention de l'analyte.

Les mécanismes d'interaction sont complexes, impliquant la combinaison de plusieurs modes d'interaction entre l'analyte, la phase stationnaire et l'éluant. En HILIC, une couche enrichie en eau est présente à la surface de la phase stationnaire. La phase mobile doit contenir un pourcentage d'eau suffisant pour que cette couche se forme. La rétention de l'analyte est souvent due à la combinaison d'une séparation dans la couche enrichie en eau, les liaisons hydrogènes et d'interactions électrostatiques.

L'utilisation d'une colonne de type HILIC a été reportée pour la séparation des composés (polaires) non retenus sur des colonnes C18, (Kovalova et al. 2009). La rétention simultanée des composés hydrophiles et hydrophobes peut être réalisée à partir des colonnes C18 possédant des greffages permettant la rétention des composés polaires [ex : l'Atlantis T3 (Huntscha et al. 2012) ou l'Acclaim Trinity P1 (Meyer-Monath et al. 2015)].

En ce qui concerne les méthodes multirésidus, visant à séparer un grand nombre de contaminants (>100), les colonnes HILIC ne sont que très peu reportées dans la littérature

car la plupart des composés organiques sont très bien retenus par les colonnes de type C18 ou les colonnes mixte C18 avec des groupements polaires. Ces colonnes offrent l'avantage de retenir une plus large gamme de composés hydrophiles mais également de retenir les molécules hydrophobes. Ainsi, les méthodes de type HILIC sont généralement appliquées pour l'analyse spécifique de certains composés polaires (Tableau 10). A titre d'exemple, 5 composés (cytostatiques et métabolites) ont été analysés par Kovalova et al. (2009), 19 pesticides par Fauvelle et al. (2014), 7 pesticides par Nortés-Mendez et al. (2016) et 28 xénobiotiques par Danezis et al. (2016). Pour les analyses non-ciblées, leur utilisation n'a pas été reportée.

Tableau 10 : Synthèse de différentes colonnes HILIC utilisées en chromatographie en phase liquide (LC)

| Référence | Colonne | Composé |
|-----------------------------|--|----------------------------------|
| (Kovalova et al. 2009) | ZIC-HILIC column (PEEK) 150 mm * 2,2 mm; 3,5 µm | 3 cytostatiques et 2 métabolites |
| (Fauvelle et al. 2014) | Zwitterionic Nucleodur HILIC 150 mm*2,1 mm; 3 µm <i>Macherey-Nagel</i> | 19 pesticides |
| (Nortés-Mendez et al. 2016) | Agilent Zorbax (RRHD) HILIC Plus column 100mm*2,1 mm ; 1,8 µm <i>Agilent</i> | 7 pesticides |
| (Danezis et al. 2016) | ZIC-pHILIC 150 mm*4,6 mm ; 5µm | 28 xénobiotiques |

La phase aqueuse peut inclure de l'acétate ou du formate d'ammonium. Les concentrations de ces ajouts sont généralement assez élevées. Pour exemple, Nortés-Mendez et al. (2016) ont utilisé 100 mM de formate d'ammonium. La phase organique employée en HILIC est généralement de l'acétonitrile (ACN) avec de l'acide formique (Nortés-Mendez et al. 2016) ou avec un petit pourcentage d'eau (Danezis et al. 2016). Fauvelle et al. (2014) ont employé en même temps du méthanol (MeOH) et de l'acétonitrile (ACN). Les conditions chromatographiques des différentes colonnes utilisées Tableau 10 sont présentées Annexe 1.

5.2.2 Chromatographie en phase gazeuse (GC)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse permet de séparer, d'identifier et de quantifier les constituants d'un mélange de molécules semi-volatiles à volatiles. La GC est généralement utilisée pour la séparation de composés

apolaires. Les composés polaires peuvent également être analysés mais en effectuant une étape de dérivation. La dérivation est néanmoins un procédé qui peut être fastidieux à mettre en œuvre car il rajoute des étapes supplémentaires avant l'analyse. De ce fait, le risque de contamination est augmenté. De plus, c'est un procédé sélectif suivant la nature du groupement à dériver. Ce procédé n'a donc pas été retenu pour ces travaux.

Dans la bibliographie, la séparation des composés apolaires est effectuée principalement par chromatographie en phase gazeuse (GC) (Gómez et al. 2009; Kadokami et al. 2012; Bu et al. 2014) (Figure 10). Le couplage à un spectromètre de masse permet d'augmenter la sensibilité et la sélectivité analytique (Kadokami et al. 2012).

Des colonnes apolaires de type DB-5 (5 % phényl // 95 % méthylpolysiloxane) de 30 mètres ont été généralement utilisées (Camino-Sánchez et al. 2011; Bu et al. 2014).

Le Tableau 11 montre des exemples de composés analysés par GC appartenant à la famille des pesticides, des produits de soins corporel, des HAP, des retardateurs de flamme etc.

Tableau 11 : Synthèse d'exemple de différentes colonnes utilisées en chromatographie en phase gazeuse (GC)

| Référence | Colonne | Composés |
|------------------------------|---|---|
| (Bu et al. 2014) | DB-5 colonne capillaire 30m * 0,25 mm*0,25 µm <i>Agilent J&W Scientific</i> | 900 composés organiques (pesticides, retardateurs de flamme, produits de soin personnel) |
| (Gómez et al. 2009) | HP-5Msi capillary column 15 m *0,25 mm; 0,25 µm <i>Agilent</i> | Produits de soin personnel et polluants émergents |
| (Pena-Abaurrea et al. 2012) | DB-5 (30 m *0,25 mm ; 0,25 µm) * BPX-50 (1,9m*0,1mm ; 0,1 µm)* HT-8 (30m * 0,25 mm; 0,25 µm) * BPX-50 (1,9m*0,1mm ; 0,1 µm) <i>SGE analytical science</i> | Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) |
| (Camino-Sánchez et al. 2011) | HP-5MS 30m*0,25 mm; 0,25 µm <i>Agilent J&W Scientific</i> | 86 polluants (polychlorobiphényles, hydrocarbures aromatiques polycycliques, polybromodiphényléthers, organophosphorés, organochlorés et les pesticides) |
| (Xu et al. 2011) | DB-1701 capillary column 30 m * 0,25 mm * 0,25 µm <i>Agilent</i> | 15 pesticides organochlorés |
| (Guo et al. 2014) | Zebron ZB-5MS capillary column 30m * 0,25 mm; 0,25 µm <i>Phenomenex</i> | 162 polluants (polychlorodibenzo-p-dioxines et dibenzofurans (PCDD/Fs) , polychlorobiphényle (PCBs), Polychlorodiphényle ethers (PCDEs), polochloronaphtalenes (PCNs), pesticides organochlorés (Ops), polybromo diphényl ethers (PBDEs) retardant de flamme halogénés (XFRs), parfum et retardateur de flamme organophosphate) |

Certains isomères ou composés ayant des structures proches ne peuvent pas être séparés chromatographiquement. Dans certains cas (co-élution des composés), il est nécessaire de les séparer avant la détection. De ce fait, l'utilisation de la chromatographie gazeuse 2D ou GC*GC est l'une des techniques qui permet d'augmenter la résolution des pics chromatographiques. La mise en place de deux colonnes possédant deux phases stationnaires différentes, offrant des interactions complémentaires, permet la séparation de ces composés (Pena-Abaurrea et al. 2012).

5.2.3 Conclusions méthodologiques

Les méthodes chromatographiques (LC ou GC) sont les principaux outils analytiques utilisés pour l'étape séparative des composés organiques. Pour les analyses multirésidus, il est nécessaire de mettre en œuvre ces deux types d'appareillage car les composés ont des gammes de polarité trop variées. Pour les composés apolaires ($\log K_{OW} > 5$) de nature hydrophobe et (semi-) volatils, la chromatographie en phase gazeuse (GC) est la principale technique analytique utilisée.

Les composés polaires et semi-polaires ($\log K_{O/W} < 3.5$) sont peu volatils et sont généralement analysés par chromatographie en phase liquide (LC). Les colonnes à phase inverse sont les plus couramment employées pour les études multirésidus, particulièrement les colonnes de type C18. La phase mobile joue un rôle très important pour l'ionisation des composés. Les principales phases mobiliées utilisées sont de l'eau et l'ajout d'acide formique, d'acide acétique, ou d'acétate d'ammonium. L'utilisation d'une colonne C18 est limitée pour l'analyse des certains composés polaires car elle n'offre pas une rétention efficace. L'emploi d'une colonne de type C18 avec des greffages de groupements polaires peut permettre d'étendre la gamme de rétention des molécules hydrophiles. Dans l'optique où les composés très polaires, polaires ou semi-polaires ne seraient pas retenus par les colonnes C18 ou les colonnes C18 greffées avec des groupements polaires, l'utilisation de colonne HILIC peut être envisagée.

5.3 Détection

L'analyse de traces nécessite des détecteurs sensibles. Cependant, pour une analyse multirésidus, le détecteur doit également pouvoir détecter une large gamme de composés. Seul le spectromètre de masse répond à ces exigences. Les principaux paramètres de ce type de détecteur sont détaillés ci-dessous.

5.3.1 Source d'ionisation

L'électrospray (ESI) est la principale source d'ionisation en chromatographie en phase liquide (Kampioti et al. 2005; Wode et al. 2012). Les deux modes (positif et négatif) sont généralement employés lors des analyses afin de pouvoir bénéficier d'un spectre large de détection. Lorsque c'est techniquement possible, les deux modes ont été utilisés lors d'une même analyse (Huntscha et al. 2012; Wode et al. 2012; Robles-Molina et al. 2014). Une autre approche consiste à effectuer l'analyse dans un mode puis avec l'autre mode (Hogenboom et al. 2009; Gómez et al. 2010; Díaz et al. 2012; Diaz et al. 2013; Hug et al. 2014). Cette dernière approche a couramment été employée surtout pour les analyseurs hautes résolutions [ex : analyseur à temps de vol (TOF)] car le temps de basculement entre les 2 modes au cours d'une analyse est trop lent. Suivant les analytes suivis, certaines études ont procédé à l'utilisation d'un seul mode d'ionisation, positif (Loos et al. 2010) ou négatif (Souchier et al. 2014).

Hormis l'ESI, Krauss et al. (2010) mentionne l'utilisation possible d'autres sources d'ionisation telles que la photoionisation à pression atmosphérique (APPI) ou l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI). Généralement, l'APCI favorise l'ionisation des composés moins polaires. La principale différence entre ces 2 sources est qu'en ESI, l'ionisation a lieu en solution, tandis qu'en APCI, l'ionisation a lieu en phase gazeuse.

Pour les analyses réalisées en GC-MS, l'impact électronique est la source d'ionisation la plus couramment employée.

5.3.2 Analyseurs en spectrométrie de masse

Parmi les analyseurs recensés dans la littérature, il est important de distinguer les analyseurs basse résolution et haute résolution. Selon le type d'approche et d'analyse, le choix de l'analyseur peut être primordial.

Le couplage entre la chromatographie (ex : liquide) et un analyseur de type triple quadrupôle (LC-QqQ) est souvent utilisé pour les analyses de « screening » ciblées ou des analyses multirésidus (Pouech et al. 2012). Il permet de détecter des composés à l'état de traces et également d'effectuer des analyses quantitatives.

Pour les analyses de « screening » non ciblées, la chromatographie doit être impérativement couplée à l'association d'un analyseur offrant une sensibilité permettant la détection de

traces, sans avoir besoin de filtrer/sélectionner un signal. Les analyseurs de masse haute résolution, de type quadrupôle/ temps de vol (LC-Q/TOF) (Díaz et al. 2012) ou Orbitrap (LC-LTQ/orbitrap), permettent de répondre à ces exigences. De plus, la haute résolution de ces analyseurs permet de distinguer et de séparer le rapport m/z (masse/charge) à une résolution supérieure à 10 000. Par rapport à une analyse avec un triple quadrupôle, comme aucun filtre n'est effectué lors de l'acquisition des masses, le traitement de données est extrêmement complexe, car tous les composants matriciels ayant été ionisés sont enregistrés. L'association en série d'un double quadrupôle (analyseur + cellule de collision) et d'un analyseur à haute résolution permet de combiner les points forts des deux types d'analyseurs : le quadrupôle procure une grande efficacité pour la sélection de l'ion parent, tandis que le TOF apporte une excellente sensibilité, grande rapidité d'analyse, résolution et précision en masse (Krauss et al. 2010) .

5.3.3 Conclusions méthodologiques

La détection par spectrométrie de masse est employée pour l'analyse multirésidus de traces. La source ESI est généralement utilisée pour le couplage entre la chromatographie en phase liquide et la spectrométrie de masse. La source EI l'est pour le couplage entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse.

Pour les méthodes multirésidus, un analyseur de type triple quadrupôle est adapté pour les analyses ciblées. En revanche, pour les approches non ciblées, il est nécessaire d'utiliser des appareils hybrides qui permettent d'obtenir des informations plus précises sur la structure des composés parents et des ions fragments. Il s'agit de l'association d'un analyseur basse résolution (quadrupôle) et d'un analyseur haute résolution (TOF ou orbitrap) dans un même spectromètre.

5.4 Traitements de données en analyse non ciblée

Les stratégies d'approches pour les analyses non ciblées sont très différentes selon les différents groupes de recherche et sont beaucoup plus complexes qu'en analyse ciblée. Pour identifier des composés inconnus, chaque laboratoire dispose de ses propres « workflow » (Krauss et al. 2010; Díaz et al. 2012; Hug et al. 2014). Actuellement, aucune stratégie commune n'a été identifiée à travers l'étude bibliographique.

6 Bilan et objectifs du travail de thèse

Pour chacune des étapes de préconcentration d'échantillon, de séparation et de détection, les données recensées dans la littérature ne permettent pas de dégager un consensus sur les paramètres expérimentaux utilisés pour effectuer des analyses non ciblées.

Pour le traitement de l'échantillon, l'extraction sur phase solide, par ses performances et facilité d'utilisation, est la technique la plus couramment utilisée. Les modes hors et en ligne offre des avantages spécifiques mais également des limitations propres à leur mode de fonctionnement. Ainsi, ces 2 modes ont été évalués. La littérature indique que le support Oasis HLB est adapté à des extractions multirésidus mais présente des limites pour la rétention des composés polaires. Ainsi, l'utilisation de plusieurs matériaux (support SPE ionique) ou procédés (cartouche en série ou multicouche) a été reporté afin de pouvoir couvrir une large gamme de composés. Par conséquent, plusieurs supports ou configurations ont été testés dans chacun des modes SPE.

La partie séparative a été abordée avec la comparaison de différentes colonnes de polarités variées. La littérature indique que les colonnes régulièrement employées pour les analyses multirésidus sont généralement de type C18. En effet, si ces colonnes s'imposent pour ce type de méthode, elles présentent des limitations pour la rétention des composés polaires. D'autres phases de type HILIC ou avec des greffages adaptés pour l'analyse des composés polaires ont été également considérées. Différentes phases mobiles ont été étudiées pour évaluer leurs influences sur la rétention de ces composés sur des colonnes chromatographiques et la réponse spectrométrique.

Une détection par spectrométrie de masse (de type triple quadrupôle) a été utilisée. Une optimisation des paramètres spectrométriques permettant la détection des composés à des niveaux de traces, a été mise en œuvre.

Ainsi, afin de tester chacune de ces étapes, des composés modèles, représentatifs des différentes familles de polluants retrouvés dans les milieux aquatiques, ont été sélectionnés pour évaluer les performances des méthodes dans une optique d'analyse non-ciblée.

La finalité des méthodes développées dans ces travaux de thèse est de les appliquer dans le cadre d'analyses non ciblées. D'après la littérature, il ne semble pas possible d'utiliser une seule méthode pour pouvoir analyser l'ensemble des contaminants. Ainsi, l'utilisation de

plusieurs méthodes complémentaires apparaît inévitable. Le point le plus chronophage des analyses non-ciblées est représenté par l'étape de traitement des données. L'optique privilégiée a ainsi été de limiter le nombre total d'analyses tout en visant une exhaustivité importante dans l'analyse d'une large gamme de composés. Ce travail a, par conséquent, également pour objectif de déterminer les limites de chaque étape du protocole analytique dans cette visée.

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

| | | |
|-------------|--|------------|
| 1 | Choix de composés modèles | 81 |
| 1.1 | Démarche de sélection | 81 |
| 1.1.1 | Produits phytosanitaires | 82 |
| 1.1.2 | Produits pharmaceutiques | 84 |
| 1.1.3 | Alkyles perfluorés | 84 |
| 1.1.4 | Retardateurs de flamme | 86 |
| 1.1.5 | Produits de soins corporels | 86 |
| 1.1.6 | Plastifiants | 86 |
| 1.1.7 | Les hydrocarbures aromatiques polycyclique (HAP) | 87 |
| 1.1.8 | Les polychlorobiphényles (PCB) | 87 |
| 1.1.9 | Les surfactants | 88 |
| 1.1.10 | Produits de dégradations | 89 |
| 1.2 | Liste finale | 89 |
| 1.3 | Propriétés physico-chimiques des polluants organiques environnementaux | 90 |
| 1.4 | Log K_{OW} et log D | 91 |
| 1.5 | Conséquences du log D pour l'analyse environnementale | 92 |
| 2 | Matrices étudiées | 95 |
| 3 | Préparation de l'échantillon par extraction sur phase solide (SPE) | 96 |
| 3.1 | SPE hors ligne | 97 |
| 3.1.1 | Principe de la SPE en mode hors ligne | 98 |
| 3.1.2 | Tests de perte de composés par évaporation et de reprise des extraits | 101 |
| 3.1.3 | Développements en SPE hors ligne | 101 |
| 3.1.3.1 | Cartouche Oasis HLB | 104 |
| 3.1.3.2 | Cartouche mixte ou « mixed-mode » | 106 |
| 3.1.3.2.1 | Cartouche à échange d'anions forts et d'anions faibles | 107 |
| 3.1.3.2.2 | Cartouche à échange de cations forts et de cations faibles | 109 |
| 3.1.3.3 | Supports multiphasés | 111 |
| 3.1.3.3.1 | Cartouche en série : Oasis HLB + MCX | 111 |
| 3.1.3.3.2 | Cartouche multicouche | 113 |
| 3.2 | SPE en ligne | 115 |
| 3.2.1 | Principe du système de préconcentration en ligne SPE | 115 |
| 3.2.1.1 | Chargement de l'échantillon | 116 |
| 3.2.1.2 | Elution des composés | 116 |
| 3.2.2 | Développements réalisés en SPE en ligne | 117 |
| 3.2.2.1 | Essais sur différents supports | 119 |
| 3.2.2.1.1 | Cartouche HLB « commerciale » | 120 |
| 3.2.2.1.2 | Cartouche Oasis HLB spark | 120 |
| 3.2.2.1.3 | Cartouche PLRP (polymeric reverse phase column) | 120 |
| 3.2.2.1.4 | Cartouche « à façon » | 120 |
| 3.2.2.1.4.1 | Cartouche Oasis HLB | 121 |
| 3.2.2.1.4.2 | Cartouche multicouche | 121 |
| 3.2.2.2 | Détermination du volume de fuite | 122 |
| 4 | Analyses par chromatographies en phase gazeuse et en phase liquide couplées à la spectrométrie de masse | 123 |
| 4.1 | Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) | 123 |
| 4.1.1 | Principe de la méthode | 123 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 4.1.2 | Méthode analytique développée | 124 |
| 4.2 | Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) | 125 |
| 4.2.1 | Analyse en mode ciblée (basse résolution) avec un analyseur triple quadropôle (LC-QqQ) | 126 |
| 4.2.1.1 | Méthodes analytiques développées | 126 |
| 4.2.1.1.1 | Colonne à phase inverse..... | 127 |
| 4.2.1.1.2 | Colonne HILIC (hydrophilic interaction chromatography)..... | 130 |
| 4.2.1.1.3 | Colonne mixte..... | 133 |
| 4.2.2 | Analyse en mode non ciblée (haute résolution) avec un analyseur hybride quadropôle/temps de vol (LC-QTOF)..... | 136 |
| 4.2.2.1 | Intérêts des analyseurs haute résolution pour de l'analyse non ciblée | 137 |
| 4.2.2.2 | Méthodes analytiques développées..... | 138 |
| 5 | Expressions des résultats | 141 |
| 5.1 | Détermination des rendements par SPE hors ligne | 141 |
| 5.2 | Détermination des sensibilités de l'analyse | 141 |
| 5.3 | Détermination de la répétabilité | 141 |
| 6 | Retraitements des données | 142 |
| 6.1 | Retraitements des données par LC-QTOF..... | 142 |
| 6.1.1 | Critères de sélection en mode « full scan » | 142 |
| 6.1.2 | Critère de sélection en mode « target MS/MS »..... | 142 |
| 6.1.3 | Paramètres du QTOF ifunnel 6550 (<i>Agilent technologies</i>)..... | 143 |
| 6.2 | Logiciels..... | 143 |

Afin de pouvoir analyser les contaminants des milieux aquatiques à des niveaux de traces, plusieurs étapes du processus analytique ont été évaluées. Le chapitre 2 présente les matériels et les méthodes utilisés pendant ces travaux de thèse.

1 Choix de composés modèles

Pour évaluer des méthodes permettant l'analyse multirésidus d'une large gamme de composés dans les milieux aquatiques, une liste de composés modèles de polluants, couramment retrouvés dans les milieux aquatiques, a été établie.

1.1 Démarche de sélection

Les composés ont été sélectionnés selon plusieurs critères :

- ✓ familles de composés représentatives (pesticides, produits pharmaceutiques, alkylperfluorés, retardateurs de flamme, produits de soins corporels, plastifiants, hydrocarbures aromatiques polycycliques, surfactants et polychlorobiphényles)
- ✓ caractères hydrophiles et hydrophobes
- ✓ caractères acide ou basique (faibles ou fortes)
- ✓ choix de certains produits de dégradation

Les composés polaires ont été privilégiés car les stations d'épuration n'ont pas été conçues pour éliminer ce type de molécules. Ainsi, ces contaminants peuvent être abondamment rejetés dans les milieux aquatiques. Par ailleurs, les produits de dégradations sont également plus polaires que les composés parents. De ce fait, ils ne sont également pas traités par les stations d'épuration. Dans le cadre de cette thèse, il a été choisi de ne pas retenir de composés organiques volatils (COV) car des méthodes de préconcentration spécifiques (espace de tête ou microextraction sur phase solide) doivent être appliquées.

Bien que certains composés sont majoritairement retrouvés dans les compartiments sédiments ou biote (exemple : PCB, retardateurs de flamme...) et que ces travaux sont exclusivement consacrés à l'étude de la fraction dissoute des milieux aquatiques, ces derniers ont été inclus dans ces travaux car ils peuvent être également retrouvés dans les matrices aqueuses.

Pour ces travaux de thèse, une liste initiale de 55 composés modèles a été établie pour les premières études puis complétée par une liste supplémentaire de 20 polluants à caractères polaires. Pour dresser cette liste, quelques polluants provenant des différentes listes de

surveillance des contaminants dans les milieux aquatiques ont été sélectionnés : DCE (DCE 2000; DCE 2013), étude prospective sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des DROM (Botta and Dulio 2014) et « arrêté du 7 août 2015 ».

Les caractéristiques physico-chimiques des molécules organiques influencent leur comportement dans l'environnement. Ainsi, les spécificités de chaque famille sont présentées dans les paragraphes suivants.

1.1.1 Produits phytosanitaires

Les pesticides comprennent un grand nombre de familles chimiques différentes. Les principales familles sont les suivantes :

- ✓ les organochlorés qui sont des composés hydrophobes. A cause de leurs propriétés et de leurs structures, ils sont essentiellement retrouvés dans les sols, les tissus végétaux et biologiques. Ce sont des polluants organiques persistants qui sont très stables. Leur dégradation peut prendre plusieurs dizaines d'années. Ils possèdent un ou plusieurs atomes de chlore. Un des composés les plus représentatifs dans cette catégorie est le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT).

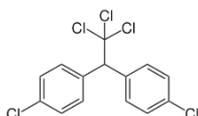


Figure 11 : Structure du DDT

- ✓ les organophosphates qui sont des composés comprenant un atome de phosphore lié à un atome d'oxygène et/ou des atomes de soufre. Ils se dégradent généralement rapidement sous l'effet du rayonnement solaire.

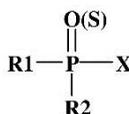


Figure 12 : Structure des organophosphates

- ✓ les pyréthrinoïdes qui font parties des insecticides les plus répandus. Ces pesticides de synthèse sont dérivés de l'acide cyclopropane carboxylique et se dégradent rapidement dans l'environnement.

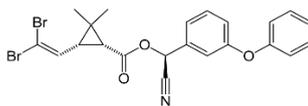


Figure 13: Structure de la deltaméthrine

- ✓ les carbamates qui sont des dérivés de l'acide carbamique. Il s'agit d'esters substitués de l'acide carbamique ou d'un amide.

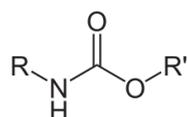


Figure 14 : Structure des carbamates

- ✓ les phénylurées qui sont des dérivés de l'urée et possèdent toutes un atome de carbone lié à un atome d'oxygène et à deux atomes d'azote (l'un d'eux portant également un groupement phényle). Les composés de cette famille diffèrent par le groupement lié à l'autre atome d'azote ainsi que par les groupements portés par la fonction phényle.

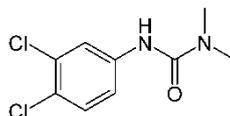


Figure 15 : Exemple de structure d'un phénylurée (diuron)

Globalement, la famille des produits phytosanitaires est extrêmement large. Cette catégorie est composée de molécules possédant divers groupements fonctionnels (amide, amine, ester) et divers hétéroatomes (azote, soufre, chlore, brome...). Ces différentes structures chimiques impliquent une grande diversité, notamment au niveau des propriétés physico-chimiques. Certains peuvent être considérés comme très polaires (ex : glyphosate, aminotriazole...) avec des groupements ionisables pour certains d'entre eux et d'autres comme très apolaires (ex : DDE, acétochlore...). Par exemple, à pH = 7, le log D du DDE est de 6,02, tandis que celui de l'aminotriazole est de - 0,3.

Les produits phytosanitaires représentent une large famille de molécules aux propriétés diverses et variées. Ainsi, pour couvrir et représenter au mieux cette classe, 35 produits phytosanitaires appartenant à différentes catégories ont été sélectionnés. Leurs structures et leurs caractéristiques physico-chimiques sont présentées Annexe 2.

1.1.2 Produits pharmaceutiques

Tout comme les produits phytosanitaires, les produits pharmaceutiques représentent une large classe de composés avec des propriétés physico-chimique très diverses. De nombreuses classes de composés constituent cette famille : les antibiotiques, les agents de contraste, les bronchodilatateurs... Les produits pharmaceutiques possèdent généralement des groupements ionisables de par les différents groupements fonctionnels qui les caractérisent. Ces derniers sont essentiellement composés d'acides carboxyliques (ex : acide acétylsalicylique) et/ou de groupements aminés (ex : metformine). L'Annexe 2 montre qu'au sein de cette famille, la gamme d'hydrophobicité est large avec à pH = 6,7, des valeurs de log D qui se répartissent entre -5,23 (metformine) et 5,93 (clotrimazole).

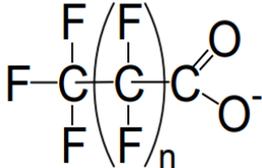
L'analyse et la détection des composés pharmaceutiques (principalement dans la colonne d'eau) sont de plus en plus fréquentes (Creusot 2011). En considérant la multitude de composés détectés (Benotti and Snyder 2009) et leurs effets néfastes sur les organismes (Fent et al. 2006), 21 produits pharmaceutiques, ayant des propriétés physico-chimiques très différentes, ont été sélectionnés. Leurs structures et leurs caractéristiques physico-chimiques sont présentées Annexe 2.

1.1.3 Alkyles perfluorés

Les perfluorés constituent une large famille de substances chimiques (plus de 800 substances) dont la particularité est d'être constituée d'une chaîne carbonée de longueur variable, sur laquelle l'ensemble (ou une importante partie) des atomes d'hydrogène a été remplacé par des atomes de fluor. Les familles de perfluorés les plus courants sont les PFCA (carboxylate d'alkyles perfluorés) et PFAS (sulfonates d'akyles perfluorés). Ils ont la particularité d'avoir une tête hydrophile avec la fonction sulfonate ou carboxylate et une queue hydrophobe constituée d'une chaîne carbonée saturée en fluor.

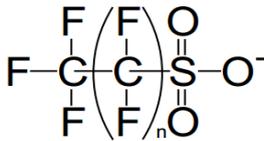
Les PFCA sont des composés perfluorés dont l'extrémité de la chaîne carbonée est une fonction carboxylique. Les principaux représentants sont l'acide perfluorooctanoïque (PFOA) et l'acide perfluorononanoïque (PFNA). Les formules chimiques, les abréviations et le nom des principaux PFCA sont présentés Tableau 12.

Tableau 12 : Formules chimiques et noms des principaux PFCA retrouvés dans l'environnement (ANSES 2011)

| Formule chimique | n | Nom | Abréviation |
|---|----|------------------------------|-------------|
| | 1 | Acide perfluoropropanoïque | PFPrA |
| | 2 | Acide perfluorobutanoïque | PFBA |
| | 3 | Acide perfluoropentanoïque | PFPeA |
| | 4 | Acide perfluorohexanoïque | PFHxA |
|  | 5 | Acide perfluoroheptanoïque | PFOA |
| | 6 | Acide perfluorooctanoïque | PFNOA |
| | 7 | Acide perfluorononanoïque | PFNA |
| | 8 | Acide perfluorodécanoïque | PFDA |
| | 9 | Acide perfluoroundécanoïque | PFUnA |
| | 10 | Acide perfluorododécanoïque | PFDoA |
| | 11 | Acide perfluorotridécanoïque | PFTrA |

Les PFAS sont des composés perfluorés. L'extrémité de leur chaîne carbonée est une fonction sulfonate dont le principal représentant est l'acide perfluorooctanesulfonique (PFOS). Les formules chimiques, les abréviations et les noms des principaux PFAS sont présentés Tableau 13.

Tableau 13 : Formules chimiques et noms des principaux PFAS retrouvés dans l'environnement (ANSES 2011)

| Formule chimique | n | Nom | Abréviation |
|---|---|-------------------------------|-------------|
| | 3 | Sulfonate de perfluorobutane | PFBS |
|  | 5 | Sulfonate de perfluorohexane | PFHxS |
| | 6 | Sulfonate de perfluoroheptane | PFHpS |
| | 7 | Sulfonate de perfluorooctane | PFOS |
| | 9 | Sulfonate de perfluorodécane | PFDS |

Certains alkyles perfluorés sont des acides relativement forts ($pK_a < 0$). A titre d'exemple, le PFOA ou le PFOS, qui sont des alkyles perfluorés à chaînes longues, ont un pK_a respectif de - 4,20 et de - 3,32. Pour l'acide heptafluorobutyrique (PFBA) (chaîne courte), le pK_a est de 1,07. Au sein donc d'une même famille, il peut y avoir des acides forts et des acides relativement faibles. Ce qui peut rendre les méthodes d'extraction ou d'analyse particulièrement complexes.

4 alkyles perfluorés ont été sélectionnés. Leurs structures et leurs caractéristiques physico-chimiques sont présentées Annexe 2.

1.1.4 Retardateurs de flamme

Les principaux retardateurs de flamme sont généralement de type bromés (RFB). Dans cette catégorie, il peut être particulièrement distingué les polybromodiphényléthers (PBDE), le tétrabromobisphénol A (TBBPA) et l'hexabromocyclododécane (HBCDD). Ce dernier regroupe plusieurs diastéréoisomères, dont les majoritaires sont les formes α , β , γ -HBCDD.

Les propriétés physico-chimiques des PBDE varient en fonction du nombre d'atomes de brome (de 1 à 10). Ce sont des composés peu hydrosolubles possédant des coefficients de partage octanol-eau ($\text{Log } K_{ow}$) élevés (généralement supérieurs à 6), ce dernier augmentant en fonction du nombre d'atomes de brome. En théorie, 209 PBDE sont possibles suivant le positionnement des atomes de brome mais seuls quelques congénères sont produits industriellement. La DCE a distingué 6 PBDE (BDE 28, BDE 47, BDE 99, BDE 100, BDE 153 et BDE 154) parmi les substances prioritaires. Les BDE 183 et 209 sont également fréquemment retrouvés dans l'environnement. D'autres BDE, issus de dégradation par débromation, peuvent être présents en minorité.

2 retardateurs de flamme ont été sélectionnés. Leurs structures et leurs caractéristiques physico-chimiques sont présentées Annexe 2.

1.1.5 Produits de soins corporels

Les filtres UV possèdent un ou plusieurs noyaux aromatiques. Ces derniers sont parfois conjugués avec des doubles liaisons carbone-carbone et des groupements carbonyles. Les filtres UV ont un caractère plutôt lipophile, avec des coefficients de partage octanol-eau ($\text{log } K_{ow}$) compris entre 3 et 8 (Annexe 2).

1 filtre UV a été sélectionné. Sa structure et ses caractéristiques physico-chimiques sont présentées Annexe 2.

1.1.6 Plastifiants

Dans ce travail de thèse, pour l'étude des plastifiants, une attention particulière a été portée sur les phtalates. Ils font partis d'un groupe de produits chimiques dérivés (sels ou ester) de l'acide phtalique. Ils sont composés d'un noyau benzénique et de deux groupements carboxylates placés en ortho et dont la taille de la chaîne alkyle peut varier (méthyle, éthyle,

butyle, hexyle...). Ce sont des composés hydrophobes qui ont donc une affinité pour les graisses ou les alcools lourds. Dans l'environnement, ils sont biodégradables mais ils peuvent être persistants dans les milieux aquatiques. Leur solubilité augmente en fonction de la longueur de la chaîne alkyle. Le log K_{OW} croît en fonction de la longueur de la chaîne (entre 4 et 12).

4 plastifiants ont été sélectionnés. Leurs structures et leurs caractéristiques physico-chimiques sont présentées Annexe 2.

1.1.7 Les hydrocarbures aromatiques polycyclique (HAP)

Les HAP sont considérés comme des molécules hydrophobes et stables. Ils sont constitués de molécules formées d'atomes de carbone et d'hydrogène mais dont la structure comprend au moins deux cycles aromatiques condensés. Ce sont des composés semi-volatils. Les HAP ont de faibles solubilités aqueuses diminuant avec l'augmentation de leurs poids moléculaires. A titre d'exemple, l'indéno (1,2,3,-cd) pyrène présente un poids moléculaire beaucoup plus important ($m/z = 276,33$) que le naphthalène ($m/z = 128,19$). L'hydrophobicité de l'indéno (1,2,3,-cd) pyrène ($\log K_{OW} = 6,58$) est 2 fois plus forte que celle du naphthalène ($\log K_{OW} = 3,4$).

Les HAP dits « lourds » (penta- à hepta-aromatiques) présentent une lipophilie et une affinité avec la matière organique, les particules et les sédiments, plus importantes que les HAP dits « légers » (di- à tétra-aromatiques) (Crespo 2009).

2 HAP ont été sélectionnés. Leurs structures et leurs caractéristiques physico-chimiques sont présentées Annexe 2.

1.1.8 Les polychlorobiphényles (PCB)

Les PCB sont des composés aromatiques organochlorés dérivés du biphényle, synthétisés sous forme de mélanges, de formules chimique $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$ (avec $1 \leq n \leq 10$) (INERIS 2011). Les PCB sont une famille de composés possédant la même base structurale chimique. Chaque noyau phényle peut porter jusqu'à 5 atomes de chlore en substitution des atomes d'hydrogène. De ce fait, il est possible d'avoir 10 degrés de chloration allant du monochloro-biphényle au décachloro-biphényle (PIREN Seine 2009; Dargnat and Fisson 2010) (Figure 16).

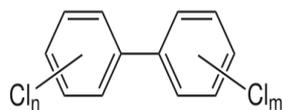


Figure 16 : Structure type d'une molécule de PCB

Ils ont un Log K_{OW} compris entre 4 et 8 (Schwarzenbach et al. 2003) et se bioaccumulent fortement. Leur solubilité varie en fonction de la position des atomes de chlore et diminue lorsque le nombre d'atome de chlore augmente (Borja et al. 2005).

1 PCB a été sélectionné. Il est présenté Annexe 2.

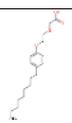
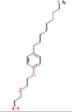
1.1.9 Les surfactants

Parmi les surfactants, les alkylphénols (AK) constituent la famille la plus étudiée actuellement. Les 4-nonylphénols et le 4-tert-octylphénol font partie de la liste des polluants prioritaires de la DCE. Les alkylphénols les plus fréquemment rencontrés dans l'environnement sont présentés Tableau 14 (Bergé 2012). Ils sont composés d'un groupement phénolique et d'une chaîne alkyle, linéaire ou ramifiée. Cette dernière est formée d'un nombre variable d'atomes de carbone (éthyle, butyle, méthyle...).

Les AK éthoxylés sont des composés amphiphiles. Ils peuvent donc se répartir entre les phases dissoutes et particulaires. Dans le cas des nonylphénols et de leurs formes éthoxylés, ces composés se présentent sous forme de mélanges d'isomères de ramifications variées sur la chaîne nonyl.

Tableau 14 : Nomenclature et structure de six alkylphénols retrouvés fréquemment dans l'environnement (Bergé 2012)

| Nom | Abréviation | Structure |
|---|-------------|-----------|
| 4-nonylphénols | 4-NP | |
| 4-ter-octylphénol | 4-t-OP | |
| Acide nonylphénol monoéthoxy carboxylés | NP1EC | |
| Nonylphénol monoéthoxylés | NP1EO | |

| Nom | Abréviation | Structure |
|---------------------------------------|-------------|---|
| Acide nonylphénol diéthoxy carboxylés | NP2EC |  |
| Nonylphénol diéthoxylés | NPE2O |  |

2 surfactants ont été sélectionnés. Leurs structures et leurs caractéristiques physico-chimiques sont présentées Annexe 2.

1.1.10 Produits de dégradations

Il est important d'avoir une attention pour les produits de dégradation. Dans l'environnement, les dégradations se font essentiellement par réaction photochimique, chimique et biologique (Mulbry and Kearney 1991; Ahmed et al. 2011). Les réactions de photodégradation par photolyse, par exemple, interviennent de manière significative pour le diclofénac (Lin and Reinhard 2005). Dans certains cas, le produit de dégradation est plus toxique et polaire que le composé parent (Isidori et al. 2005). Ces contaminants possèdent des propriétés qui leurs sont propres, souvent méconnues. De nos jours, les connaissances sur le comportement et la dangerosité de ces molécules (pesticides, médicaments, HAP...) restent insuffisantes pour la surveillance des milieux aquatiques (M. la Farré et al. 2008). 6 produits de dégradation et métabolites de produits phytosanitaires ou de produits pharmaceutiques ont été inclus dans la liste des composés étudiés.

1.2 Liste finale

La Figure 17 présente un récapitulatif du nombre de composés étudiés par famille : produits phytosanitaires (36), produits pharmaceutiques (21), alkyles perfluorés (4), retardateurs de flamme (2), filtres UV (1), plastifiants (4), hydrocarbures aromatiques polycycliques (2), des surfactants (2), PCB (1), produit de désinfection (1) et sucre (1).

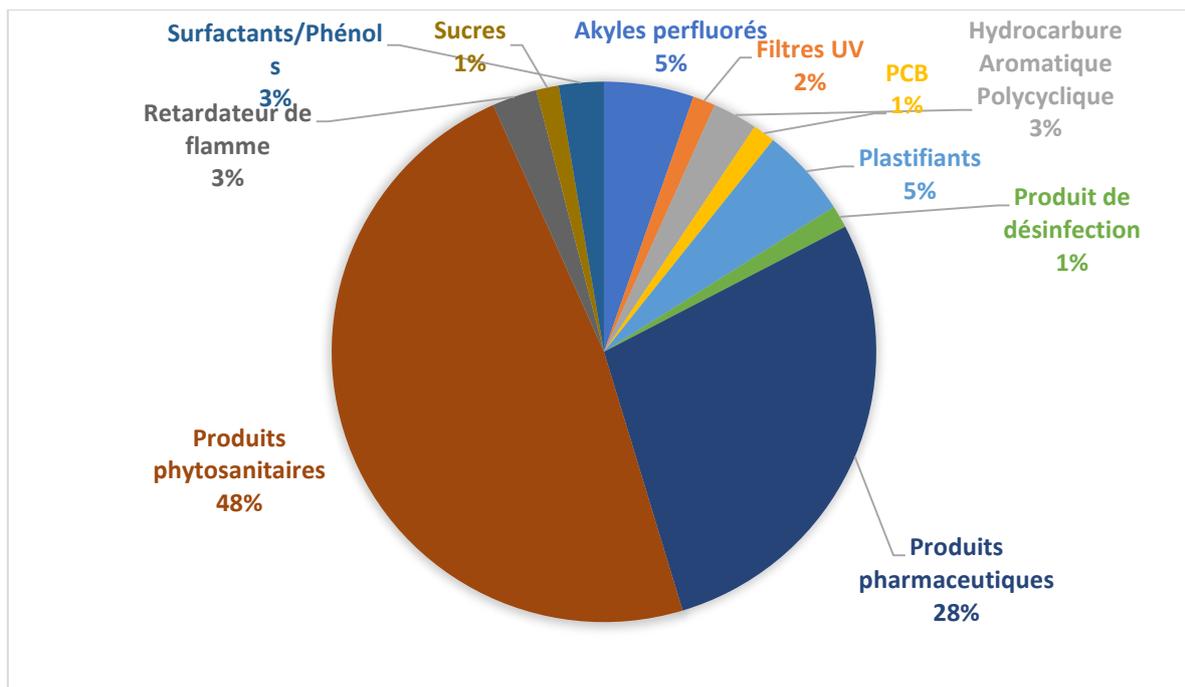


Figure 17 : Présentation des différentes familles de composés sélectionnés pour ces travaux de thèse.

Les paragraphes précédents ont montré que les divers polluants environnementaux considérés, présentent des propriétés physico-chimiques très variées. La famille des produits pharmaceutiques ou des produits phytosanitaires comprend de nombreuses substances avec un caractère hydrophile. D'autres familles de contaminants, tels que les HAP, les PCB ou les retardateurs de flamme englobent majoritairement des substances à caractère hydrophobe. Dans le cas des alkyles perfluorés, des acides forts et des acides faibles peuvent être retrouvés. De nombreuses substances, dans les diverses familles, présentent également des groupes ionisables, acide ou basique, pour lesquels les pH de l'extraction et de l'analyse vont avoir un impact significatif. Tous ces paramètres vont avoir une influence importante sur le choix des méthodes analytiques à mettre en œuvre.

1.3 Propriétés physico-chimiques des polluants organiques environnementaux

Les composés hydrophobes ont une affinité plus importante avec les matrices aquatiques possédant des propriétés similaires, tels que les sédiments, le biote ... Généralement, ces molécules ne comportent pas de groupements ionisables.

A l'inverse des composés hydrophobes, les molécules hydrophiles sont des composés peu volatils et qui possèdent des groupements ionisables (acide carboxylique, amine...). Elles sont généralement retrouvées majoritairement dans les matrices aqueuses. Lorsqu'une molécule est composée d'une ou plusieurs fonctions acide ou basique, cette dernière peut se

retrouver sous forme ionique ou neutre selon le pH. Ainsi, d'un point de vue analytique, le caractère hydrophile ou hydrophobe d'une molécule selon le pH est très important à prendre en compte, notamment pour la rétention des composés sur les cartouches SPE ou sur les colonnes analytiques.

1.4 Log K_{OW} et log D

La polarité peut se définir comme la répartition des charges positives et négatives au sein d'une molécule. Les différences d'électronégativité dans l'espace - et particulièrement la dissymétrie de répartition des charges, positive ou négative - vont augmenter le caractère polaire d'une molécule. Dans le cas des molécules organiques, les molécules polaires sont principalement composées de fonctions d'alcool, d'acide ou d'amine. Pour déterminer la polarité d'une molécule, le principal indice est le log de K_{OW} (coefficient de partage octanol/eau, aussi appelé log P).

Plus le log de K_{OW} est élevé, plus la molécule est hydrophobe. Ainsi, selon les classements utilisés par le groupement NORMAN ou AQUAREF, notamment dans le cadre de l'étude exploratoire 2012, un composé est considéré comme apolaire lorsque son log $K_{OW} > 5$. Les composés hydrophobes ont une plus forte affinité avec la phase particulaire et sont ainsi inclus dans cette catégorie. Un composé possédant un log K_{OW} (entre 3 et 5) peut être présent dans la phase dissoute et particulaire. En dessous de 3, les composés sont généralement considérés comme principalement présents dans la phase dissoute.

Pour les molécules ionisables (comportant des groupements acides ou basiques), cette approche est limitée car elle ne tient pas compte de leur état d'ionisation en fonction du pH. En effet, le log K_{OW} est calculé lorsque la molécule est dans un état non-ionisé (neutre). Ainsi, pour les composés présentant un groupement acide, il est déterminé aux alentours de $pH \sim 2$ où la fonction acide est entièrement protonée. A l'inverse, pour un composé comportant une fonction basique, le log K_{OW} sera déterminé avec un pH supérieur à 9. Le log K_{OW} ne tient donc pas compte de leur état d'ionisation en fonction du pH, particulièrement celui correspondant aux milieux aquatiques.

Le pH des eaux naturelles se situe généralement entre 6 et 8. Ainsi, les fonctions acides et basiques des polluants sont sous formes partiellement ou totalement ionisées à ces valeurs de pH.

Dans ce cas, il est plus pertinent d'utiliser le log D car il prend en compte l'état d'ionisation des molécules à différents pH en tenant compte des propriétés des molécules et de la constante d'acidité (pKa).

La Figure 18 présente un exemple de composé ionisable à différent pH : l'ibuprofène.

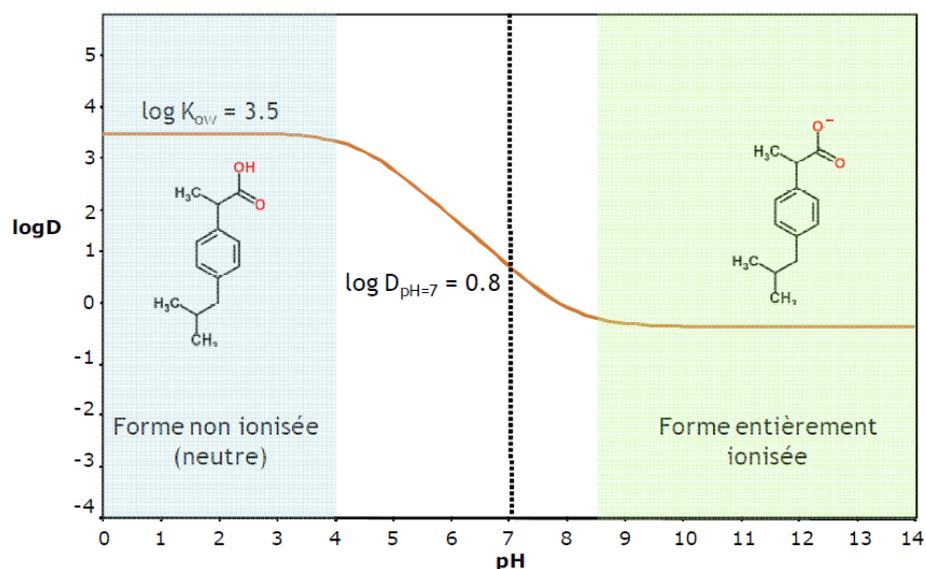


Figure 18 : Log D en fonction du pH de l'ibuprofène (Lestremau 2014).

L'ibuprofène a un log K_{OW} de 3,5. Cette valeur a été déterminée à un pH acide (pH < 4) où la molécule est totalement protonée. Au-delà de ce pH, la fonction acide commence à se déprotoner (pour devenir sous forme COO^-) devenant de plus en plus hydrophile. A pH = 7, la distribution de l'ibuprofène entre l'eau et l'octanol est modifiée par rapport au pH acide. A partir de pH = 8,5, ce composé est totalement ionisé.

1.5 Conséquences du log D pour l'analyse environnementale

Dans l'exemple précédent sur l'ibuprofène, le fait de considérer le log D permet d'établir que cette molécule est principalement présente en phase dissoute dans les milieux naturels (log D = 0.8 à pH = 7), contrairement à ce que laisse supposer la valeur de son log K_{OW} .

La détermination du log D en fonction du pH peut ainsi permettre d'évaluer la présence du composé dans les matrices aqueuses, sédiments et biotes.

Lors du développement d'une méthode analytique, la prise en compte du log D est également importante car il permet de visualiser l'état d'ionisation d'une molécule et son hydrophobit. Cela influe le choix des supports de rétention lors des extractions SPE et des

colonnes permettant la séparation chromatographique. Cela impacte également l'état d'ionisation de la molécule lors de la détection en spectrométrie de masse. Par exemple, lors des étapes de préconcentration en extraction sur phase solide ou de séparation par chromatographie en phase liquide, si le support de rétention choisi est de type hydrophobe (ex : C18), il est préférable que le composé soit sous forme neutre pour qu'il ait le maximum de rétention avec le support choisit.

En chromatographie en phase liquide, si une colonne de type C18 est utilisée, un composé de ce type a donc beaucoup plus de rétention avec la colonne à pH acide (Figure 19). A titre d'exemple, avec une phase mobile acide (pH = 2,5), le temps de rétention du diclofénac (molécule avec un groupement acide possédant des propriétés proches de celle de l'ibuprofène) est plus important qu'avec une phase mobile en acétate d'ammonium (pH = 6,5). Les pics à ces différents pH sont beaucoup plus fins, car une seule forme existe. En revanche, lorsqu'une phase aqueuse a été employée à pH non ajustée (pH ≈5), le pic est beaucoup plus large, traduisant une présence simultanée des 2 formes du diclofénac.

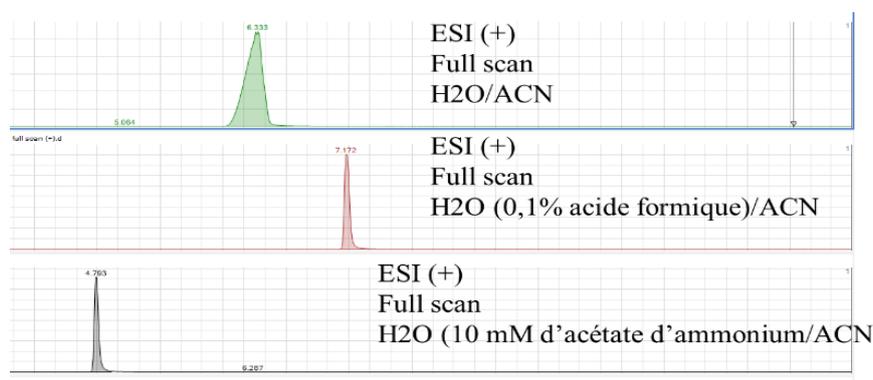


Figure 19 : Chromatogramme du diclofénac obtenu avec différentes phases aqueuses et pH sur le LC-QTOF 6550 ifunnel.

La Figure 20 montre les états du diclofénac à différents pH. A pH = 3, le composé est sous forme neutre, tandis qu'à partir de pH = 6, il est entièrement sous forme ionique. Ainsi, le composé est plus apolaire en milieu acide.

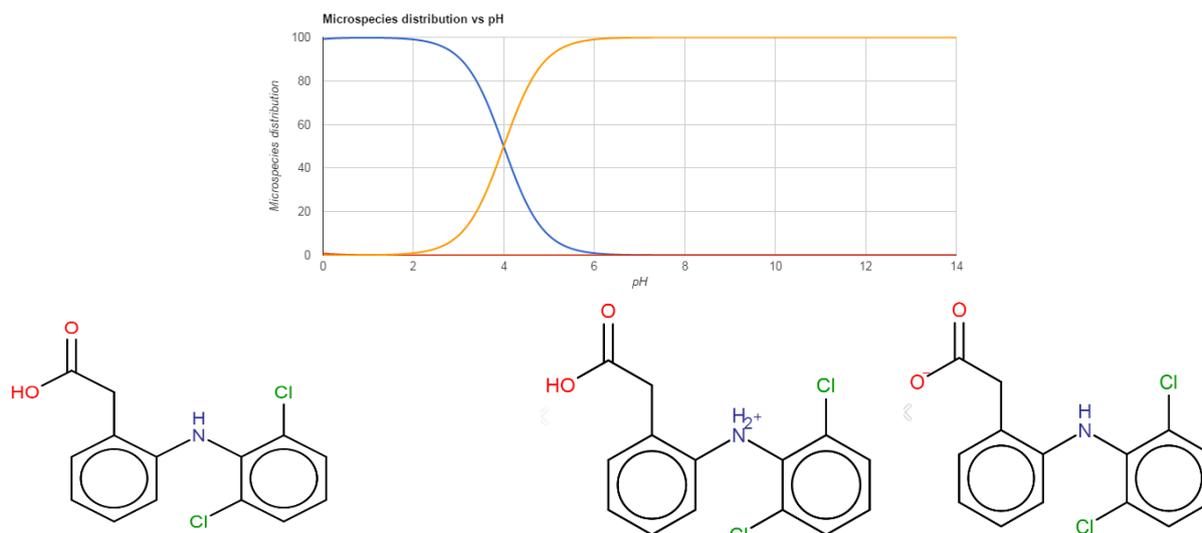


Figure 20 : Répartition du diclofénac en fonction du pH. La courbe bleue est la forme protonée de la fonction acide, la jaune est la forme déprotonnée de la fonction acide et la rouge est la forme protonée de la fonction basique

Le même principe s'applique pour la préconcentration par SPE. Un composé avec un groupement acide sera mieux retenu par un support de type HLB si le pH de l'échantillon est acide. A contrario, avec un support d'extraction SPE composé de groupements ioniques, un pH d'échantillon neutre ou basique sera privilégié afin de favoriser les interactions ioniques.

Tous ces éléments indiquent que lors du développement des méthodes d'extraction et de chromatographie, l'influence des groupements ionisables de certains polluants aquatiques doit être prise en compte lors de l'analyse.

2 Matrices étudiées

Les matrices aqueuses présentent une grande diversité selon leurs natures et leurs constituants. Des distinctions peuvent ainsi être effectuées selon leur origine et leur complexité respective. Les matrices étudiées pour ces travaux de thèse ont été :

- ✓ l'eau milliQ. Elle présente l'avantage d'être neutre et de ne pas posséder de composants matriciels pouvant influencer l'extraction, la séparation et/ou la détection. Elle servira de référence par rapport aux autres matrices dans ces travaux.

- ✓ une eau de source. L'eau d'Evian a été utilisée dans ces travaux de thèse. Pour chaque nouvelle manipulation, une bouteille en verre neuve a été utilisée. L'eau n'a pas été filtrée.

- ✓ Une eau de rivière. L'eau de l'Oise a été choisie comme eau de rivière. Pour chaque nouvelle manipulation, l'eau récupérée a immédiatement été filtrée puis stockée dans une bouteille en verre pour les analyses suivantes (< 1 jour).

- ✓ Une eau de STEP. Elle provient de la sortie de la station d'épuration des eaux usées de Montataire (France) découlant des activités industrielles et urbaines. Dès son prélèvement, elle a été filtrée puis stockée dans une bouteille en verre pour une future analyse (< 1 jour).

Les deux dernières eaux ont été filtrées avec un filtre « whatman glass microfibers filters » (*Sigma-aldrich*) de diamètre de 142 mm et de taille de pore de 0,7 μm .

3 Préparation de l'échantillon par extraction sur phase solide (SPE)

La préconcentration des micropolluants présents dans les matrices aqueuses a été réalisée par extraction sur phase solide (SPE).

La SPE est une technique qui purifie et concentre sur une cartouche les composés d'intérêt avant leurs analyses en les séparant de la matrice dans laquelle ils se trouvent. Elle permet donc l'enrichissement des composés avant l'analyse. Ainsi, elle améliore également la qualité de l'analyse en réduisant le bruit de fond provoqué par les interférents de la matrice, prolonge la durée d'utilisation des colonnes chromatographiques et évite l'encrassement du détecteur.

Deux modes peuvent être distingués :

- ✓ la SPE semi-automatisée ou en différée, appelée SPE hors ligne. L'extraction peut être réalisée grâce à un automate indépendant du système chromatographique.
- ✓ la SPE automatisée, appelée SPE en ligne. Dans ce cas, le module SPE est connecté directement à l'entrée de la colonne chromatographique.

Le choix de ces modes est effectué selon les stratégies d'approches et besoins de l'analyse (ciblée, multirésidus ou non ciblée).

Les avantages et inconvénients de chaque mode sont présentés Tableau 15.

Tableau 15 : Avantages et inconvénients de la SPE hors ligne et en ligne

| | SPE hors ligne | SPE en ligne |
|---------------|---|--|
| Avantages | <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Large choix des cartouches <input type="checkbox"/> Maîtrise des conditions d'élution <input type="checkbox"/> Reconcentration de l'extrait | <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Automatisation de la méthode <input type="checkbox"/> Utilisation d'un volume d'échantillon très faible <input type="checkbox"/> Rapidité de la méthode <input type="checkbox"/> Diminution des risques de contamination |
| Inconvénients | <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Le temps de préparation (chargement, élution, reconcentration) <input type="checkbox"/> Système partiellement automatisé <input type="checkbox"/> Utilisation d'un volume d'échantillon et de solvant important <input type="checkbox"/> Risques de contamination | <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Faible maîtrise des paramètres d'élution |

L'élution des cartouches entre ces deux techniques est très différente. En SPE hors ligne, les étapes de rinçage et d'élution sont beaucoup plus maîtrisables qu'en SPE en ligne. En SPE en ligne, après la focalisation des composés et d'une partie de la matrice en tête de cartouche, ces derniers sont directement élués à l'aide du gradient chromatographique vers la colonne analytique. Il est ainsi beaucoup plus difficile de se débarrasser de la matrice. Cela est également critique pour les composés polaires retenus sur des cartouches ioniques. Leurs éluions doivent être effectuées avec des solutions basiques et/ou acides, ce qui peut être incompatible avec les phases mobiles utilisées pour la méthode chromatographique.

Les volumes d'extraction et de solvant utilisés en SPE en ligne sont beaucoup plus faibles qu'en SPE hors ligne car la totalité des composés retenus sur la précolonne est transférée en tête de colonne analytique et analysée, ce qui permet, à partir d'un volume d'échantillon plus faible, d'atteindre une sensibilité équivalente à celle de la méthode en SPE hors ligne qui met en jeu de plus grands volumes.

Les étapes de préparation sont également réduites avec des systèmes plus automatisés et intégrés avec le système analytique. Ainsi, le risque de contamination diminue. De plus, les systèmes automatisés permettent d'analyser un grand nombre d'échantillons.

3.1 SPE hors ligne

Pour les développements en SPE hors ligne, les composés ont été analysés sur un système Acquity UPLC H-Class (*Waters*) couplé à un triple quadrupôle (Acquity TQ Detector, *Waters*) (Figure 21) et sur un GC-MS TRACE GC Ultra- DSQ II MS (*Thermo Fisher Scientific*) (Figure 22).



Figure 21 : Acquity UPLC H-Class (Waters) couplé à un triple quadrupôle (Acquity TQ Detector, Waters)



Figure 22 : TRACE GC Ultra- DSQ II MS Thermo Fisher Scientific

3.1.1 Principe de la SPE en mode hors ligne

Le principe de la SPE hors ligne consiste à faire passer un volume connu de l'échantillon à travers une cartouche ouverte contenant un adsorbant solide approprié à l'extraction des composés d'intérêts. Cette méthode permet d'extraire de grands volumes d'échantillons (de quelques mL jusqu'au litre). La quantité de phase est variable selon les applications (ex : 60, 150, 200, 1000 mg...). Plus le volume d'échantillon est grand et plus la quantité de phase SPE devra être élevée pour retenir tous les composés. Il existe deux modes d'utilisation :

- ✓ le premier mode consiste à préconcentrer l'analyte. Ainsi, les composés d'intérêt sont initialement retenus sur l'adsorbant. Ensuite, les analytes sont récupérés par élution avec un faible volume de solvant. L'extrait est concentré dans un plus petit volume, ce qui permet d'atteindre des seuils de détection bas. Cette méthode est la plus couramment employée et a été utilisée dans le cadre de cette thèse.

- ✓ l'autre mode consiste à faire passer l'échantillon sur l'adsorbant qui retient les composés matriciels (potentiellement des interférents) pendant que les analytes traversent la cartouche. Dans ce cas, l'échantillon est purifié mais aucune concentration des analytes n'est effectuée.

En SPE hors ligne, pour le mode en préconcentration, plusieurs étapes sont distinguées (Figure 24) :

- ✓ le conditionnement
- ✓ le dépôt de l'échantillon
- ✓ le lavage de la cartouche
- ✓ l'élution

Pour cette étude, les extractions ont été réalisées sur un automate Autotrace SPE Workstation, Zymark (Figure 23).



Figure 23 : AutoTrace SPE Workstation, Zymark

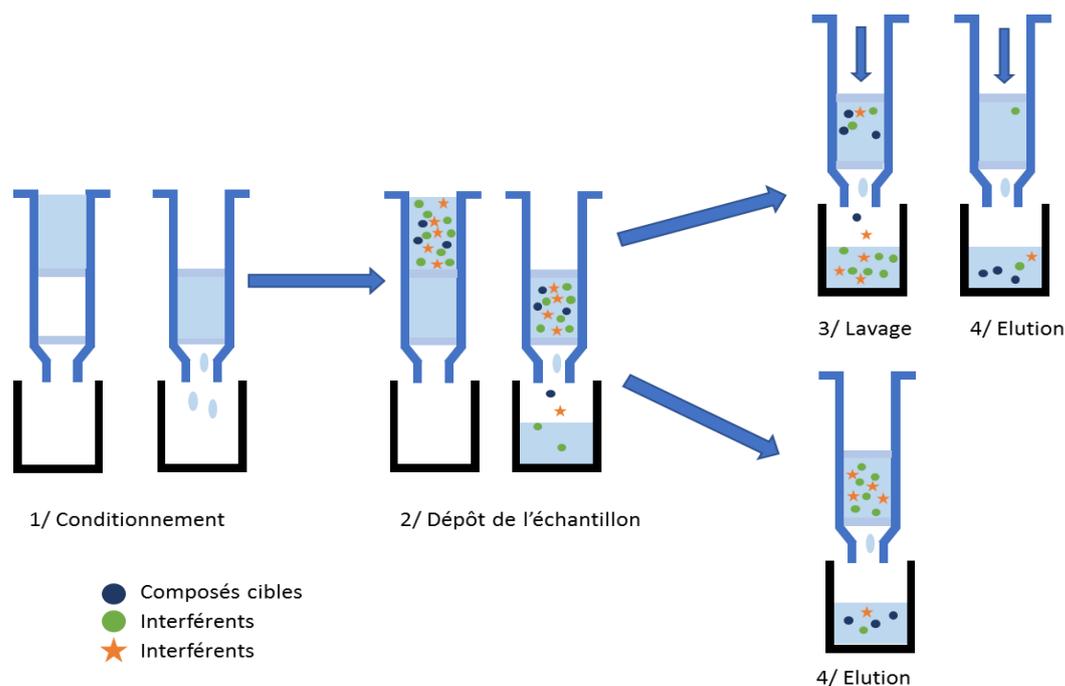


Figure 24 : Etapes principales de la SPE hors ligne

Après l'étape d'éluion, un protocole de reprise en SPE a été établi pour cette étude avant l'analyse des extraits par LC-QqQ et GC-MS. Il est présenté à travers la Figure 25. Il a été appliqué quelles que soient les cartouches employées.

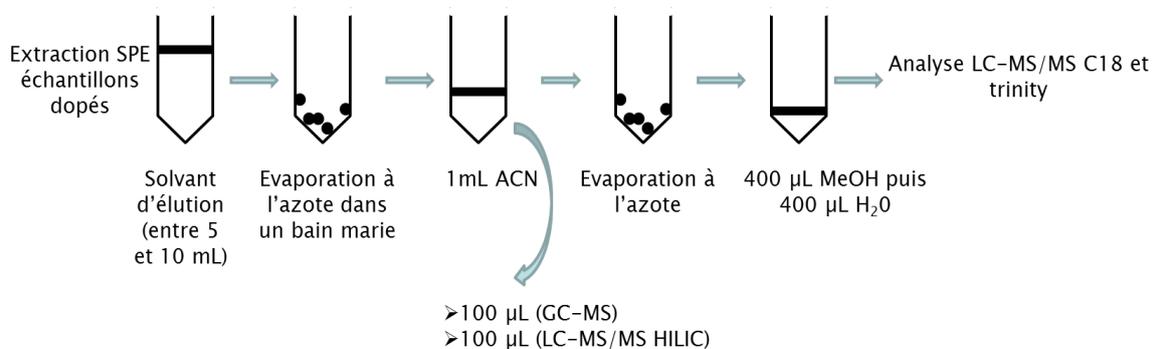


Figure 25 : Protocole de concentration et d'évaporation pour les analyses en LC-MS/MS et GC-MS

Après l'étape d'extraction par SPE, les extraits sont concentrés à sec puis repris avec 1 mL d'ACN : 100 µL sont prélevés pour les analyses des composés en GC-MS et 100 µL pour les analyses des composés en LC-QqQ par colonne HILIC. L'extrait restant d'ACN (800 µL) est réduit à sec puis repris avec 400 µL de MeOH, afin de solubiliser les composés les plus hydrophobes. 400 µL d'H₂O sont ensuite ajoutés pour se rapprocher des conditions de début de gradient chromatographique. Cette solution de reprise a été utilisée pour l'analyse des composés en LC-QqQ par colonne C18.

3.1.2 Tests de perte de composés par évaporation et de reprise des extraits

Avant de débiter les extractions SPE hors ligne, une première partie de l'étude a été consacrée à évaluer si l'étape d'évaporation de solvant et reprise pourrait entraîner des pertes de composés.

D'après le protocole générique appliqué pour les extractions réalisées sur cartouches SPE (par exemple sur cartouche Oasis HLB), la Figure 25 montre qu'après l'extraction, les composés sont présents dans un extrait constitué de 5 mL de MeOH. Deux étapes d'évaporation, puis deux étapes de reprise, de l'extrait sec, ont été réalisées (chapitre 3, partie 2, section 1.2).

Lors de l'étape de reconcentration, le risque est que certains composés (surtout les composés semi-volatils analysés en GC-MS) puissent se volatiliser lors de l'évaporation du solvant. D'autres composés pourraient également rester adsorbés sur les parois du matériel utilisé (flacon, vial, pipette) lors de la reprise des extraits. Pour vérifier si cette étape a une influence sur la récupération des composés d'intérêt, un protocole de test a été mis en place (Figure 26).

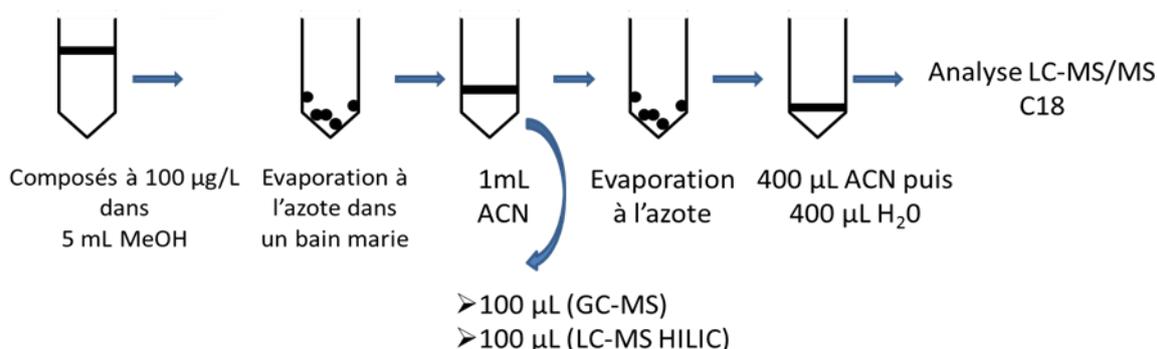


Figure 26: Protocole de test pour évaluer les pertes éventuelles lors du protocole post-SPE

Une solution à 100 µg/L, contenant les composés, a été préparée dans 5 mL de MeOH puis le protocole de reprise présenté précédemment a été appliqué.

3.1.3 Développements en SPE hors ligne

Pour obtenir une préparation d'échantillon adaptée à la préconcentration d'une large gamme de composés aux propriétés physico-chimiques variées, des essais ont été effectués en faisant varier plusieurs paramètres. Ainsi, de nombreux développements analytiques en SPE hors ligne ont été réalisés. Les paramètres étudiés ont été les suivants : la nature de phase SPE, la quantité de phase SPE, le volume de fuite... Le choix de ces différents

paramètres, en fonction des cartouches employées, sera détaillé dans la partie 2 du chapitre 3. Trois réplicats ont été réalisés pour chaque étude. Pour toutes les extraction SPE (sauf l'extraction sur la cartouche Oasis HLB avec un pH de l'échantillon non ajusté), 2 éluations ont été réalisées et recueillies séparément. Ainsi, chaque éluant a été analysé individuellement pour s'assurer de l'éluion des composés et observer les effets des phases acides et basiques lors de l'éluion des cartouches mixed-modes. Les différentes conditions expérimentales utilisées pour les études effectuées par SPE hors ligne sont récapitulées dans le Tableau 16.

Le pH des échantillons a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre. Pour ajuster le pH en milieu acide, de l'acide formique a été employé. Pour ajuster le pH en milieu basique, l'hydroxyde d'ammonium a été utilisé.

Tableau 16 : Paramètres SPE évalués lors de ces travaux

| | Cartouche | Quantité de phase (mg) | Volume de l'échantillon (mL) | pH de l'échantillon | Conditionnement | Elution | Matrice étudiée | Test EDTA | Paragraphe concerné |
|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------------|---------------------|---|---|---|-----------|--|
| Commerciale | Oasis HLB | 200 | 500 | Non ajusté | MeOH + H ₂ O | 5 mL MeOH | Eau milliQ | Non | Chapitre 3, partie 2, section 1.4 |
| | | 60 | 500 | Non ajusté | MeOH + H ₂ O | 5 mL MeOH | Eau milliQ | Non | Chapitre 3, partie 2, section 1.4 |
| | | 60 | 50 100 200 500 | Non ajusté | MeOH + H ₂ O | 5 mL MeOH | Eau milliQ | Non | Chapitre 3, partie 2, section 1.5 |
| | | 60 | 100 | 3 | MeOH + H ₂ O (pH=3) | 2 * 5 mL MeOH | Eau milliQ Eau d'Evian Eau de l'Oise Eau de STEP | Oui | Chapitre 3 : partie 2 section 3 Chapitre 3 : publication n°1 Chapitre 4 : partie 1 |
| | Oasis MCX | 60 | 100 | 3 | MeOH + H ₂ O (pH=3) | 5 mL MeOH + 5 mL MeOH + 5 % NH ₄ OH | Eau milliQ | Non | Chapitre 3 : publication n°1 |
| | Oasis MAX | 60 | 100 | Non ajusté | MeOH + H ₂ O (pH non-ajusté) | 5mL MeOH + 5 mL MeOH + 5 % HCOOH | Eau milliQ | Non | Chapitre 3 : publication n°1 |
| | Oasis WCX | 60 | 100 | Non ajusté | MeOH + H ₂ O (pH non-ajusté) | 5 mL MeOH + 5 mL + 5 % HCCOH | Eau milliQ | Non | Chapitre 3 : publication n°1 |
| | Oasis WAX | 60 | 100 | 3 | MeOH + H ₂ O (pH = 3) | 5 mL MeOH + 5 mL MeOH + 5 % NH ₄ OH | Eau milliQ | Non | Chapitre 3 : publication n°1 |
| Cartouche « à façon » | Oasis HLB + Oasis MCX | 60 + 60 | 100 | 3 | MeOH + H ₂ O (pH=3) | 5mL MeOH + 5mL MeOH + 5 mL + 5 % NH ₄ OH + 5 mL + 5 % NH ₄ OH | Eau milliQ | Non | Chapitre 3 : publication n°1 |
| | Cartouche multicouche | 165 | 100 | 6,7 | MeOH + H ₂ O (pH=6,7) | 4 mL MeOH/acétate d'éthyle (50/50) + 2 % NH ₄ OH + 2 mL MeOH/acétate d'éthyle (50/50) + 1,7 % HCl | Eau milliQ Eau d'Evian Eau de l'Oise Eau de STEP | Oui | Chapitre 3 : partie 2 section 3 Chapitre 3 : publication n°1 Chapitre 4 : partie 1 |

3.1.3.1 Cartouche Oasis HLB

D'après les revues bibliographiques et l'état de l'art présenté dans le chapitre 1, la cartouche la plus couramment employée, pour les analyses multirésidus, de polluants organiques dans les matrices aqueuses, est l'Oasis HLB, Waters.

Cette cartouche présente l'avantage d'être composée d'une partie hydrophile et hydrophobe (Figure 27):

- ✓ le N-Vinylpyrrolidone constitue la partie hydrophile du matériel. Il retient les composés avec des groupements polaires.
- ✓ le divinylbenzène constitue la partie hydrophobe. Il retient les composés apolaires.

Cette cartouche est adaptée pour l'extraction d'une large gamme de composés neutres ($\log K_{OW} > 0$), ou présentant certains groupements acides et basiques. Cependant, elle est limitée pour les composés très polaires ($\log K_{OW} < 0$) (Baker and Kasprzyk-Hordern 2011).

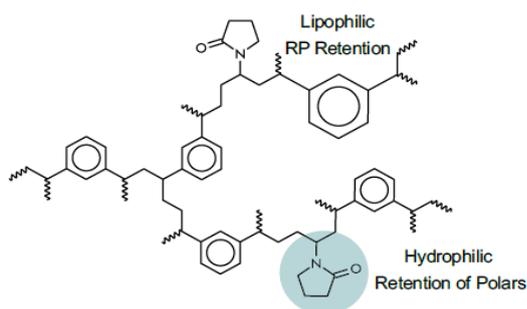


Figure 27 : Nature et propriété de la phase contenue dans une cartouche Oasis HLB

Le protocole de la méthode SPE utilisée pour l'extraction par l'automate des échantillons à pH = 3 sur les cartouches Oasis HLB est présenté Tableau 17.

Tableau 17 : Protocole d'extraction sur la cartouche Oasis HLB à pH acidifié avec l'automate SPE

| Etape | Actions | VOLUME + Solvant | Débits (mL/min) |
|-------|------------------------------------|---|--------------------|
| 1 | Rinçage de l'aiguille | 5 mL d'ACN puis 5 mL d'eau MilliQ | 3 |
| 2 | Conditionnement de la colonne : | 5 mL de MeOH puis 5 mL d'eau MilliQ (pH = 3) | 5 |
| 3 | Chargement de la cartouche | Ex : 500 mL | 10 |
| 4 | Séchage de la cartouche : | 30 min | |
| 5 | « soak » et élution | 2 + 3 mL de MeOH | 5 |
| 6 | « soak » et élution | 2 + 3 mL de MeOH | 5 |

Lors des tests de plusieurs supports SPE, le pH de l'échantillon a été étudié. Des extractions sur un support HLB à pH non ajusté ont été mises en œuvre.

Le support Oasis HLB a été réévalué en milieu acide (pH=3). Les eaux ont été acidifiées avec de l'acide formique.

Pour s'assurer de l'élution de tous les composés, 2 éluions avec du méthanol (MeOH) (Loos et al. 2010; Díaz et al. 2012; Masiá et al. 2013) ont été réalisées pour ces derniers essais :

- 1^{ère} élution : 5 mL de MeOH
- 2^{nde} élution : 5 mL de MeOH

Les résultats sont présentés dans la publication n°1 du chapitre 3.

Afin d'étudier l'effet de l'adsorption sur le flaconnage, l'ajout dans les échantillons avant extraction d'un agent complexant [l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA)] à 0,05 % a été étudié (Brieudes 2014). Certains composés très polaires, comme la tétracycline ou le glyphosate, peuvent former des chélates avec les ions métalliques ou des métalloïdes (ex : avec les ions Na⁺, ces contaminants peuvent rester adsorber sur les parois des flacons en verre). De ce fait, des méthodes analytiques spécifiques employant un agent de chélation (EDTA) peuvent être utilisées pour neutraliser la présence de métaux (Lestremau 2014). Les résultats sont présentés dans le chapitre 3, partie 2, section 3.

3.1.3.2 Cartouche mixte ou « mixed-mode »

Pour les composés plus polaires, d'autres types de support possédant des types d'interactions spécifiques doivent être employés. De ce fait, des supports avec des groupements ioniques de type mixte ou « mixed-mode » ont été testés lors des développements :

- ✓ Oasis MAX (mixed-mode anion-exchange). Cette cartouche agit avec les analytes ciblés via deux modes de rétention : échange ionique avec les groupements basiques forts greffés (cation ammonium quaternaire chargé de façon permanente, indépendamment du pH de la solution) et rétention en phase inverse. Elle est particulièrement adaptée à l'extraction des acides faibles ($2 < pka < 8$).

- ✓ Oasis WAX (mixed-mode weak anion-exchange). Cette cartouche agit avec les composés d'intérêt via deux modes de rétention : échange ionique avec les groupements basiques faibles greffés et rétention en phase inverse. Elle a une grande sélectivité pour la rétention des acides forts ($pka < 1$).

- ✓ Oasis MCX (mixed-mode cation-exchange). Cette cartouche retient les composés d'intérêt grâce à un mode de rétention d'échanges entre les groupements acides forts greffés (groupe sulfonique (SO_3^-) toujours sous forme ionique quel que soit le pH) et la phase inverse. Elle est particulièrement adaptée à l'extraction des bases faibles ($2 < pka < 10$).

- ✓ Oasis WCX (mixed-mode weak cation-exchange). Cette cartouche agit avec les molécules ciblées, grâce à une rétention incluant un échange ionique avec les groupements acides faibles greffés et une rétention en phase inverse. Son utilisation est adaptée pour l'extraction des bases fortes et des amines quaternaires ($pka > 10$).

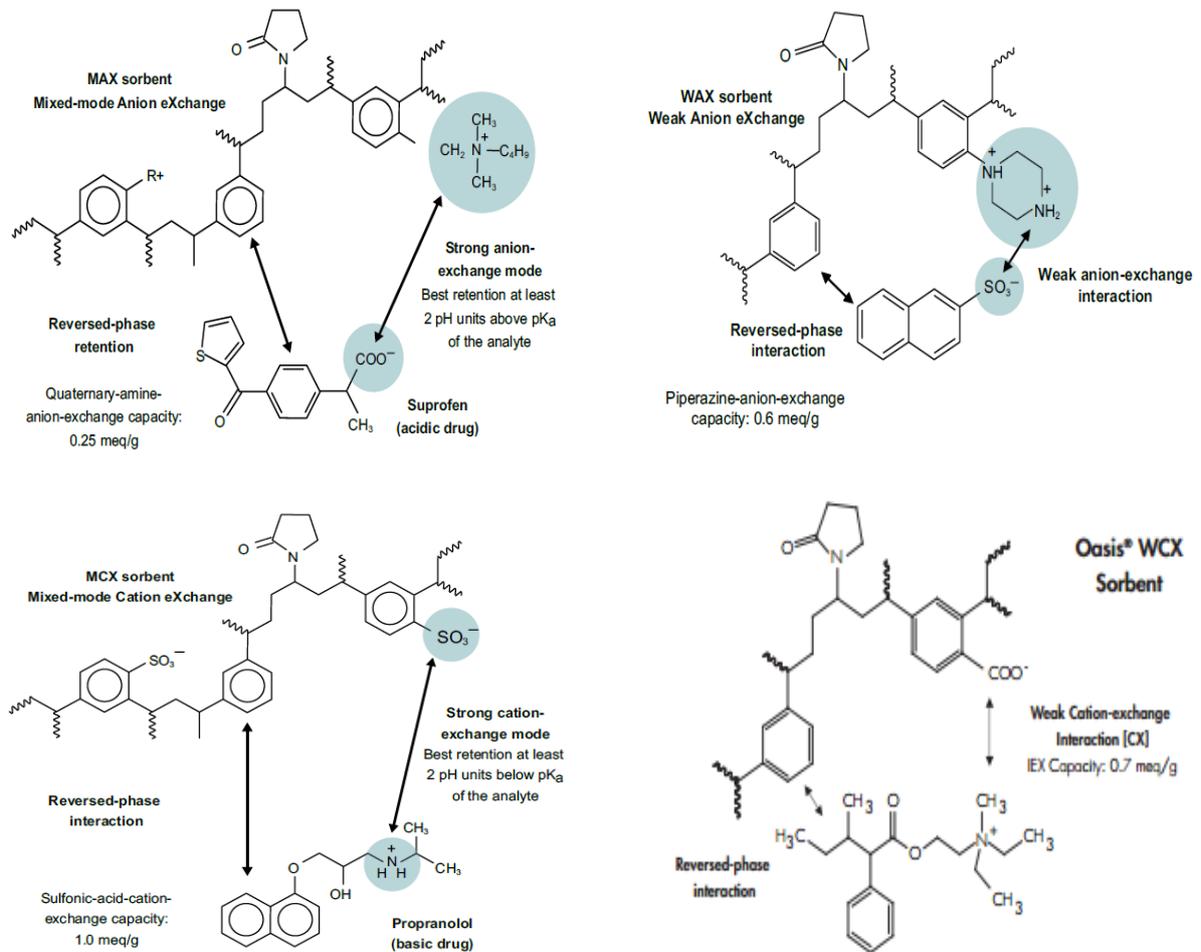


Figure 28 : Représentation des différentes cartouches Oasis « mix mode » utilisées en SPE hors ligne (Waters 2015)

3.1.3.2.1 Cartouche à échange d'anions forts et d'anions faibles

Le protocole de la méthode SPE par l'automate sur les cartouches Oasis MAX et WAX est présenté Tableau 18.

Tableau 18 : Protocole d'extraction sur les cartouches Oasis MAX et WAX avec l'automate SPE

| Etape | Actions | Volume + Solvant (Oasis MAX) | Volume + Solvant (Oasis WAX) | Débits (mL/min) |
|-------|-------------------------------|---|--|--------------------|
| 1 | Rinçage de l'aiguille | 5 mL d'ACN puis 5 mL d'eau MilliQ (pH non ajusté) | 5 mL d'ACN puis 5 mL d'eau MilliQ (pH = 3) | 3 |
| 2 | Conditionnement de la colonne | 5 mL de MeOH puis 5 mL d'eau MilliQ (pH non ajusté) | 5 mL de MeOH puis 5 mL d'eau MilliQ (pH = 3) | 5 |
| 3 | Chargement de la cartouche | 100 mL (pH non ajusté) | 100 mL (pH = 3) | 10 |
| 4 | Séchage de la cartouche | 30 min | 30 min | |
| 5 | « Mouillage » et élution | 2 + 3 mL de MeOH | 2 + 3 mL de MeOH | 5 |
| 6 | « Mouillage » et élution | 2 + 3 mL de MeOH + 5 % HCOOH | 2 + 3 mL de MeOH + 5 % NH ₄ OH | 5 |

Pour la cartouche Oasis MAX, lorsque l'échantillon est à pH basique ou neutre, les analytes sont chargés et la phase échangeuse d'anions permet la rétention des acides faibles (composés déprotonés). A pH acide, la phase échangeuse d'ion n'est plus fonctionnelle car les composés acides sont sous formes neutres (protonés). Dans ce cas, la phase inverse peut extraire les composés non ionisés. Ainsi, les extractions réalisées sur cette cartouche ont été effectuées sans ajustement du pH de l'échantillon.

Pour ce type de phase, 2 éluions ont été réalisées :

- 1^{ère} élution : 5 mL de MeOH
- 2^{nde} élution : 5 mL de MeOH + 5 % HCOOH

L'acide formique (HCOOH) a été ajouté pour faciliter l'élution des composés. Les molécules ionisées extraites sont retenues par la phase anionique (Kovalova et al. 2009). L'ajout d'un acide permet de protoner les molécules d'intérêt et réduire les interactions ioniques. Les résultats sont présentés dans la publication n°1 du chapitre 3.

Lorsque le support WAX est employé, quel que soit le pH, les analytes visés sont toujours sous forme déprotonés (anioniques). La phase échangeuse d'anions est composée d'une

base faible. Il est donc primordial de travailler à pH neutre ou acide pour conserver la phase cationique de la cartouche sous forme ionisée. Ainsi, les extractions ont été réalisées à pH = 3. Les résultats sont présentés dans la publication n°1 du chapitre 3.

2 éluions ont été effectuées :

- 1^{ère} élution : 5 mL de MeOH
- 2^{nde} élution : 5 mL de MeOH + 5 % NH₄OH

L'hydroxyde d'ammonium a été utilisé pour favoriser l'élution des composés (Chen et al. 2013; Munoz et al. 2015). Les molécules ionisées extraites sont retenues par la phase cationique. L'ajout d'une base permet de déprotonner le cation présent sur le support de la cartouche (cation diméthylammonium). De ce fait, le composé qui se trouve sous sa forme ionique n'est plus maintenu par la phase devenue neutre.

3.1.3.2.2 Cartouche à échange de cations forts et de cations faibles

Le protocole de la méthode SPE par l'automate sur les cartouches Oasis MCX et WCX est présenté dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Protocole d'extraction sur les cartouches Oasis MCX et WCX avec l'automate SPE

| Etape | Actions | Volume + Solvant (Oasis MCX) | Volume + Solvant (Oasis WCX) | Débits (mL/min) |
|-------|-------------------------------|--|---|--------------------|
| 1 | Rinçage de l'aiguille | 5 mL d'ACN puis 5 mL d'eau MilliQ (pH = 3) | 5 mL d'ACN puis 5 mL d'eau MilliQ (pH non ajusté) | 3 |
| 2 | Conditionnement de la colonne | 5 mL de MeOH puis 5 mL d'eau MilliQ (pH = 3) | 5 mL de MeOH puis 5 mL d'eau MilliQ (pH non ajusté) | 5 |
| 3 | Chargement de la cartouche | 100 mL (pH = 3) | 100 mL (pH non ajusté) | 10 |
| 4 | Séchage de la cartouche | 30 min | 30 min | |
| 5 | « soak » et élution | 2 + 3 mL de MeOH | 2 + 3 mL de MeOH | 5 |
| 6 | « soak » et élution | 2 + 3 mL de MeOH + 5 % NH ₄ OH | 2 + 3 mL de MeOH + 5 % HCOOH | 5 |

Le support MCX (échange de cations forts) en milieu acide (pH = 3) a été étudié. A pH acide, les analytes sont chargés et la phase échangeuse de cations permet la rétention des bases faibles (composés protonés). A pH basique, la phase échangeuse d'ions n'a plus d'influence car les composés sont sous formes neutres. Dans ce cas, la phase inverse favorise l'extraction des composés non ionisés.

2 éluions ont été réalisées :

- 1 ière élution : 5 mL de MeOH
- 2 nde élution : 5 mL de MeOH + 5 % NH₄OH

L'ajout d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) a été utilisé pour faciliter l'élution des composés (Wang et al. 2016). Les molécules ionisées extraites sont retenues par la phase cationique. L'ajout d'une base permet de déprotomer les molécules d'intérêt. De ce fait, ils se trouvent sous leur forme neutre et ne sont plus retenus par la phase cationique. Les résultats sont présentés dans la publication n°1 du chapitre 3.

Le support WCX (échange de cations faibles) a été étudié à pH neutre. Quel que soit le pH, les analytes visés sont toujours sous forme cationiques ou protonnés. La phase échangeuse

d'anions est composée d'un ion carboxylate. Il est donc primordial de travailler à pH neutre ou basique pour conserver la phase anionique de la cartouche sous forme ionisée.

2 éluions ont été réalisées :

- 1^{ère} éluion : 5 mL de MeOH
- 2^{nde} éluion : 5 mL de MeOH + 5 % HCOOH

L'acide formique (HCOOH) a été utilisé pour faciliter l'éluion des composés piégés (Wang et al. 2016). Les molécules ionisées sont retenues par la phase anionique. L'ajout d'un acide permet de protoner l'anion présent sur le support de la cartouche (ion carboxylate). De ce fait, le composé qui se trouve sous sa forme ionique n'est plus retenu par la phase. Les résultats sont présentés dans la publication n°1 du chapitre 3.

3.1.3.3 *Supports multiphases*

L'intérêt d'utiliser ce type de support est de tenter d'élargir la gamme de composés notamment polaires, qui peuvent être retenus par rapport aux cartouches ioniques qui sont adaptées pour la rétention spécifique des molécules polaires (acide et/ou base fort et/ou faible). Deux types de supports multiphases, élaborés au laboratoire, ont été testés.

3.1.3.3.1 *Cartouche en série : Oasis HLB + MCX*

Deux cartouches en série (60 mg chacune) ont été utilisées en positionnant en premier un support générique HLB, dans le but de piéger les composés apolaires et semi-polaires. Ensuite, un support MCX pour les molécules polaires (Figure 29).

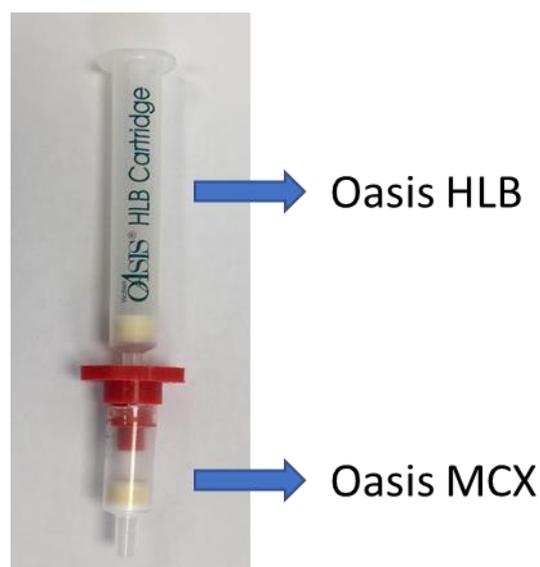


Figure 29 : Système représentant les cartouches en série (Oasis HLB + Oasis MCX)

Le protocole de la méthode SPE sur les cartouches en série est présenté Tableau 20.

Tableau 20 : Protocole d'extraction avec les cartouches en série Oasis HLB + MCX avec l'automate SPE

| Etape | Actions | Volume + Solvant | Débits (mL/min) |
|-------|-------------------------------|--|--------------------|
| 1 | Rinçage de l'aiguille | 5 mL d'ACN puis 5 mL d'eau MilliQ (pH = 3) | 3 |
| 2 | Conditionnement de la colonne | 5 mL de MeOH puis 5 mL d'eau MilliQ (pH = 3) | 5 |
| 3 | Chargement de la cartouche | 100 mL (pH = 3) | 10 |
| 4 | Séchage de la cartouche | 30 min | |
| 5 | « soak » et élution | 2 + 3 mL de MeOH | 5 |
| 6 | « soak » et élution | 2 + 3 mL de MeOH | 5 |
| 6 | « soak » et élution | 2 + 3 mL de MeOH + 5 % NH ₄ OH | 5 |
| 6 | « soak » et élution | 2 + 3 mL de MeOH + 5 % NH ₄ OH | 5 |

4 éluions ont ainsi été réalisées :

- 1 ière élution : 5 mL de MeOH
- 2 nde élution : 5 mL de MeOH

- 3^{ème} élution : 5 mL de MeOH + 5 % NH₄OH
- 4^{ème} élution : 5 mL de MeOH + 5 % NH₄OH

Deux élutions pour chaque type de solvant (MeOH et MeOH + 5 % NH₄OH) ont été effectuées afin de s'assurer de l'élution de tous les composés. Ces solvants ont été choisis en fonction des solvants qui ont été utilisés pour l'Oasis HLB et la MCX. Les résultats sont exposés dans la publication n°1 du chapitre 3

3.1.3.3.2 Cartouche multicouche

Différents travaux de recherche (Kern et al. 2009; Schymanski et al. 2014) ont fait état de l'utilisation d'une cartouche multicouche, pour l'extraction SPE dans le but de réaliser de l'analyse non ciblée. Dans leurs travaux, ils utilisaient une cartouche hybride qui était constituée d'Oasis HLB (200 mg) dans la phase supérieure, et d'un mélange de Strata X-AW⁸ [Phenomenex] + Strata X-CW⁹ (Phenomenex) + Isolute ENV + (Biotage)] dans la phase inférieure (150 mg/100 mg/100 mg, respectivement) (Figure 30). Les phases SPE utilisées pour la fabrication de ces cartouches ont été récupérées sur des cartouches commerciales.

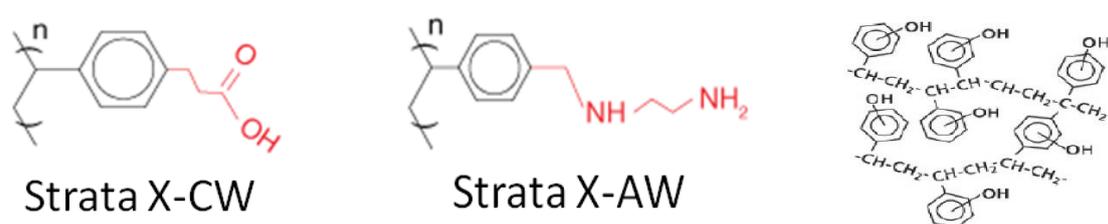


Figure 30 : Structure des phases Strata X-CW, Strata X-AW et Isolute ENV +

Pour comparer avec les autres résultats de cette étude, qui a été effectuée avec des cartouches ayant un format avec 60 mg de phases, les proportions entre les phases ont été conservées mais les quantités ont été réduites en prenant comme référence une quantité de 60 mg de HLB. La cartouche produite au laboratoire est décrite Figure 31. Elle est formée d'une première couche contenant 60 mg d'Oasis HLB et d'une seconde couche contenant un mélange de 105 mg [Strata X-AW/ Strata X-CW et Isolute ENV + (1/1/1,5)].

Des cartouches vides (sigma-aldrich) de 3 mL ont été employées. Des frittés ont été placés en dessous du mélange SPE, entre les deux couches et au-dessus de la phase Oasis HLB.

⁸ Cartouche mixed-mode à échange d'anions faibles

⁹ Cartouche mixed-mode à échange de cations faibles

Chaque phase SPE a été tassée à l'aide d'un poussoir manuel permettant une bonne homogénéité des phases et réduisant ainsi la formation de chemins préférentiels.



Figure 31 : Cartouche SPE multicouche fabriquée au laboratoire

Le Tableau 21 présente les différentes conditions utilisées pour la cartouche multicouche.

Tableau 21 : Protocole d'extraction sur la cartouche multicouche avec l'automate SPE

| Etape | Actions | Volume + Solvant | Débits (mL/min) |
|-------|-------------------------------|--|--------------------|
| 1 | Rinçage de l'aiguille | 5 mL d'ACN puis 5 mL d'eau MilliQ (pH = 6,7) | 3 |
| 2 | Conditionnement de la colonne | 5 mL de MeOH puis 5 mL d'eau MilliQ (pH = 6,7) | 5 |
| 3 | Chargement de la cartouche | 100 mL (pH = 6,7) | 10 |
| 4 | Séchage de la cartouche | 30 min | |
| 5 | « soak » et élution | 2 + 2 mL de MeOH/Acétate d'éthyle (1/1) + 2 % NH ₄ OH | 5 |
| 6 | « soak » et élution | 2 + 2 mL de MeOH/Acétate d'éthyle (1/1) + 1,7 % HCOOH | 5 |
| 6 | « soak » et élution | 1 + 1 mL de MeOH + 5 % NH ₄ OH | 5 |

2 éluions ont été réalisées :

- 1 ière élution : 4 mL de MeOH + 2 % NH₄OH
- 2 nde élution : 2 mL de MeOH + 1,7 % HCl

La première solution (MeOH + 2 % NH₄OH) permet d'éluer les composés retenus par la phase Strata-X- AW (chapitre 2 section 3.1.3.2.1), et la seconde (MeOH + 1,7 % HCl), était destiné à éluer les composés piégés par la phase Strata X-CW (chapitre 2 section 3.1.3.2.2). L'acide chlorhydrique (HCl) a été employé à la place de l'acide formique (HCOOH) car c'est un acide non organique et il ne réagira pas avec la base NH₄OH pour former un sel. Le pourcentage et la quantité de solvant ont été repris des travaux de Kern et al. (2009).

L'étude d'un agent de décomplexification (l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA)) à 0,05 % a également été effectué. Les résultats sont présentés dans la publication n°1 du chapitre 3.

3.2 SPE en ligne

Les développements en SPE en ligne ont été réalisés sur un module SPE (Agilent 1200) connecté directement à l'UHPLC (Agilent 1290) et couplé à un spectromètre de masse triple quadrupôles (Agilent 6460) (Figure 32).

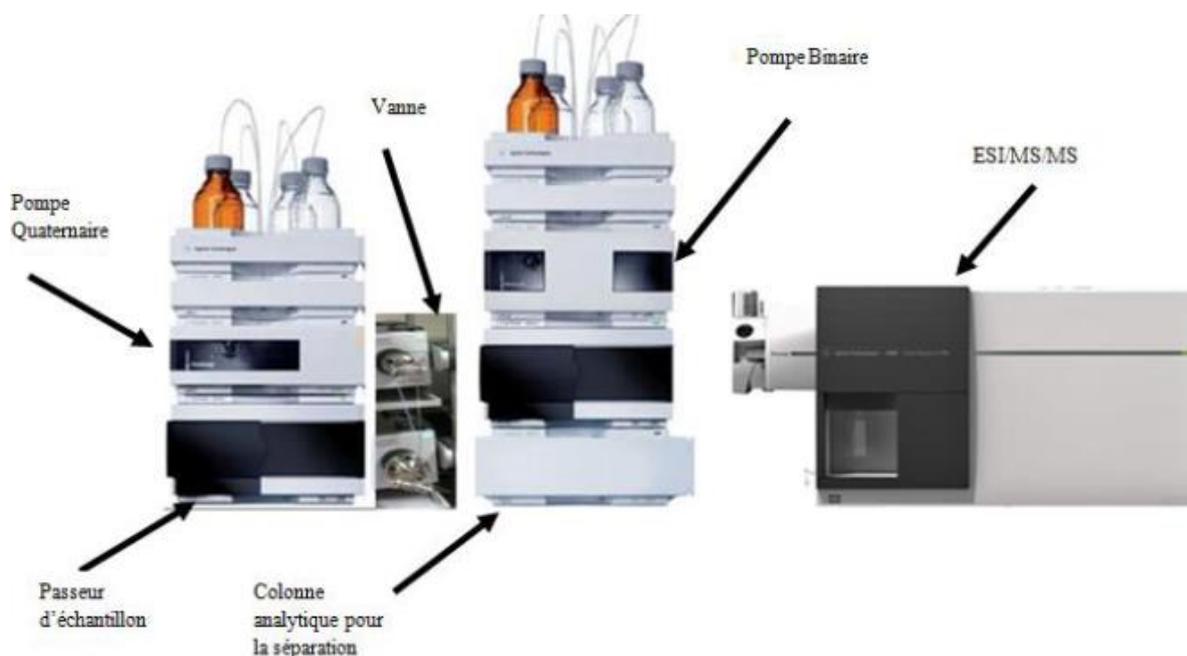


Figure 32 : UHPLC 1290 couplée à un spectromètre MS/MS triple quadrupôle 6460 (Agilent technologies)

3.2.1 Principe du système de préconcentration en ligne SPE

L'extraction sur phase solide en ligne (SPE en ligne) est une technique automatisée qui permet de connecter directement une colonne de préconcentration SPE à un système chromatographique en phase liquide (UHPLC). Contrairement aux cartouches de SPE hors

ligne, la quantité de phase peut être beaucoup moins importante (10, 20, 100 mg). Le volume d'échantillon est également moins important (de quelques μL à quelques mL).

Les 2 principales étapes nécessaires sont (Figure 33) :

- ✓ le chargement
- ✓ l'éluion

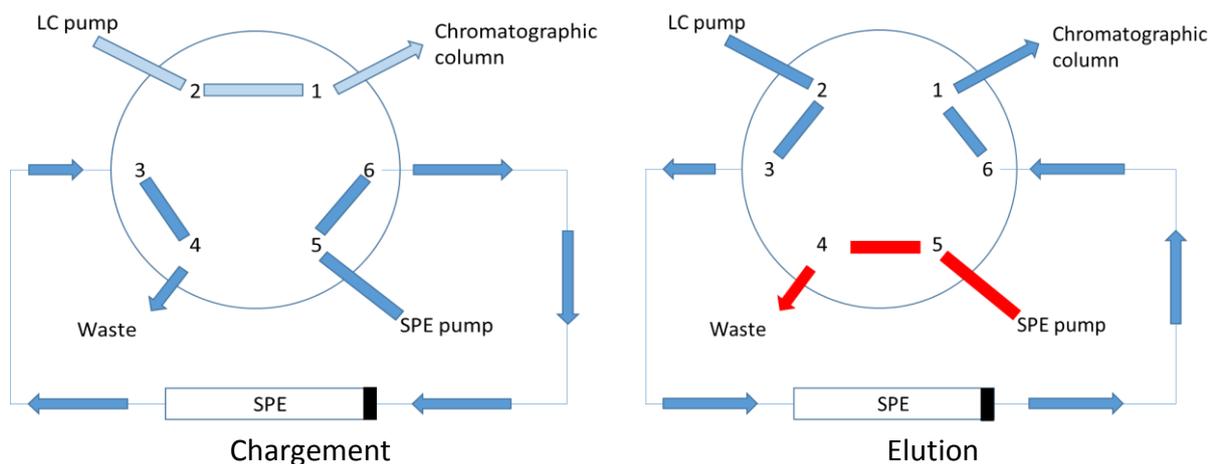


Figure 33 : Principe de la SPE en ligne

Grâce à ce dispositif, aucune manipulation de l'échantillon n'est effectuée. Les étapes de préparation d'échantillon sont réduites et le risque de contamination est minimisé.

3.2.1.1 Chargement de l'échantillon

L'échantillon est prélevé à l'aide d'une seringue et chargé sur la cartouche SPE à l'aide d'une pompe. Le volume d'échantillon est relativement faible (ex : 900 μL) et dépend des boucles d'injection utilisées. Une grande quantité d'échantillons injectée peut s'avérer limitante pour les composés qui ne sont pas focalisés en tête de cartouche et qui n'ont aucune, ou peu, d'affinité avec celle-ci. Ils ont tendance à migrer à travers le support. Ils peuvent également ne pas être piégés par la cartouche et atteindre le volume de relargage (volume de fuite).

3.2.1.2 Elution des composés

Lors de cette étape, les vannes de la pompe quaternaire basculent de manière à ce que les composés soient élués par le gradient chromatographique vers la colonne chromatographique en mode « back flush ».

Avec les systèmes actuels de SPE en ligne, analytes et interférents retenus sur la cartouche sont directement introduits dans le système analytique. Une étape de rinçage peut être effectuée pour éliminer une partie de la matrice mais le risque de perdre certains composés

est un paramètre à prendre en compte. Cette étape n'a pas été testée dans ces travaux de thèse.

3.2.2 Développements réalisés en SPE en ligne

Plusieurs cartouches SPE de nature et de taille différentes ont été testées :

- ✓ trois cartouches commerciales :
 - Oasis HLB (3*20 mm) (Waters) : 45 mg de phase SPE (appelé dans le reste du document Oasis HLB « commerciale »)
 - Oasis HLB spark (Waters) (2*10 mm): 10 mg de phase SPE
 - PLRP (4,6*12 mm) (Agilent) : 10 mg de phase SPE
- ✓ des cartouches « à façon » (2*20 mm) (Biotage) permettant de contrôler la quantité ou la nature des phases, ont été ensuite élaborées et évaluées¹⁰.
 - Oasis HLB : ~20 mg de phase SPE
 - Multicouche : ~20 mg de phase SPE

Pour déterminer les performances de chaque cartouche, plusieurs paramètres ont été étudiés :

- ✓ le pH de l'échantillon
- ✓ la quantité de phase
- ✓ le volume de chargement qui correspond au volume de fuite
- ✓ le mode d'élution

Les différents paramètres en fonction de chaque cartouche sont présentés Tableau 22.

¹⁰ La fabrication de ces cartouches est présentée dans le paragraphe (3.2.2.1.4).

Tableau 22 : Présentation des différents paramètres étudiés pour chaque cartouche utilisée dans ces travaux

| | Cartouche | Dimension (mm) | Granulométrie (µm) | pH de l'échantillon | Quantité de phase (mg) | V Extraction (µL) | Volum e de fuite (µL) | Mode d'élution | Paragraphe concerné |
|-----------------------|-----------------|----------------|--|----------------------|------------------------|-------------------|--|--|--|
| Commerciale | Oasis HLB | 3*20 | 25 | Non ajusté 3 2 | 45 | 900 | 100 200 300 500 900 | Gradient chromatographique | Chapitre 3, partie 3, section 2.1 ;2.3 |
| | Oasis HLB spark | 2*10 | 30 | 3 | 10 | 900 | Non réalisé | Gradient chromatographique | Chapitre 3, partie 3, section 2.2 |
| | PLRP | 4,6*12 | 15 | 3 | 10 | 900 | 100 200 300 500 900 | Gradient chromatographique | Chapitre 3, partie 3, section 2.3 |
| Cartouche « à façon » | Oasis HLB | 2*20 | 30 | 3 | ~20 | 750 | 100 200 300 500 750 900 | Gradient chromatographique | Chapitre 3, partie 3, section 2.4 Publication n°2 |
| | Multicouche | 2*20 | Oasis HLB : 30 Strata-X-AW : 33 Strata -X-CW : 33 Isolute ENV + : non référencé | 6,7 | ~20 | 750 | 100 200 300 500 750 900 | 3 éluations testées : H ₂ O + NH ₄ OH (pH=8,9) à 0,250 mL/min pendant 1 min + H ₂ O + HCOOH (pH= 2,6) à 0,1 mL/min pendant 30 s + Gradient chromatographique | Chapitre 3, partie 3, section 2.4 Publication n°2 |

Le Tableau 22 montre que deux types d'élution ont été réalisées :

- ✓ avec le gradient chromatographique
- ✓ avec un module permettant 3 éluations successives

En SPE en ligne, le gradient chromatographique est généralement utilisé pour éluer les composés vers la colonne chromatographique. Pour toutes les cartouches étudiées contenant une phase unique, cette méthode a été employée (Togola et al. 2014).

Pour les extractions nécessitant une cartouche multicouche, les conditions d'élutions suivantes ont été utilisées :

- ✓ 1^{ère} élution composée d'une solution d'H₂O + NH₄OH (pH = 8,9)
- ✓ 2^{ème} élution composée d'une solution d'H₂O + HCOOH (pH = 2,6)
- ✓ 3^{ème} élution composée du gradient chromatographique

Huntscha et al. (2012) ont utilisé cette cartouche pour l'analyse de polluants polaires dans les eaux. En revanche leur système d'élution est différent de celui employé dans la thèse. Pour éluer les composés vers la colonne analytique, une élution avec du méthanol contenant 0,1 % d'acide formique a été réalisée avec un débit de 30 µL/min pendant 7 min. Le méthanol a été ensuite dilué avec une phase mobile (H₂O + 5 mM d'acétate d'ammonium) à l'aide d'une pompe additionnelle.

Les études en SPE hors ligne ont montré que l'utilisation d'une cartouche multicouche nécessitait l'emploi de plusieurs solutions (acide et basique) pour éluer les composés. Ainsi, dans une optique de retenir une large gamme de composés et de les éluer vers le système chromatographique, une solution basique a été utilisée pour éluer les composés polaires retenus par la phase Strata-X-AW ; une autre solution acide, pour éluer les contaminants polaires retenus par la phase Strata-X-CW ; et le gradient chromatographique pour éluer les molécules semi polaires et apolaires retenus par les phases Oasis HLB et Isolute ENV +.

Le temps d'élution (10, 20, 30, 60, 90, 120, 150 et 180 s) et la vitesse d'élution (100 µL/min et 300 µL/min) ont été étudiés. Les résultats sont présentés dans la publication n°2 du chapitre 3.

3.2.2.1 *Essais sur différents supports*

Plusieurs supports ont été testés en SPE en ligne. Ces derniers sont présentés dans les paragraphes suivants.

3.2.2.1.1 Cartouche HLB « commerciale »

Pour débiter les extractions en SPE en ligne, la cartouche Oasis HLB commerciale (3*20 mm ; 25 µm, 45 mg de phase) (Waters) a été choisie. Les résultats sont présentés dans la partie 3 du chapitre 3.

3.2.2.1.2 Cartouche Oasis HLB spark

Des cartouches Oasis HLB Prospekt-2 (10*2 mm) (Waters) contenant beaucoup moins de phase que la cartouche commerciale (~10 mg) ont été étudiées. Cette cartouche sera nommée « cartouche HLB spark ». Les extractions ont été réalisées à pH=3 (pH ajusté avec HCOOH) sur ce support. Les résultats sont présentés dans la partie 3 du chapitre 3.

3.2.2.1.3 Cartouche PLRP (polymeric reverse phase column)

La cartouche PLRP (4,6*12 mm) (Agilent) est composée d'un polymère divinylbenzène et agit avec un mode de rétention en phase inverse. Elle se rapproche des caractéristiques de la cartouche Oasis HLB spark (Waters). Elle contient ~10 mg de phase SPE.



Figure 34 : Dispositif de la cartouche PLRP (holder + cartouche, Agilent)

Les résultats sont présentés dans la partie 3 du chapitre 3.

3.2.2.1.4 Cartouche « à façon »

Un dispositif, comprenant les joints, les frittés, les cartouches et le holder produit par *BGB analytical* (BGB), a permis de créer des cartouches spécifiques en y ajoutant des phases SPE désirées. Elle est constituée d'un tube creux (2*20 mm), ce qui permet de disposer jusqu'à environ 20 mg de phase souhaitées. La masse ajoutée est contrôlée par gravimétrie. Pour cela, la cartouche a été pesée avant et après ajout de la phase SPE. Le schéma de remplissage de la cartouche est présenté Figure 35. La phase SPE est située entre deux filtres et deux joints qui permettent d'assurer l'étanchéité et de résister à la pression du système analytique. Les 2 phases qui ont été testées sont l'Oasis HLB et la multicouche.

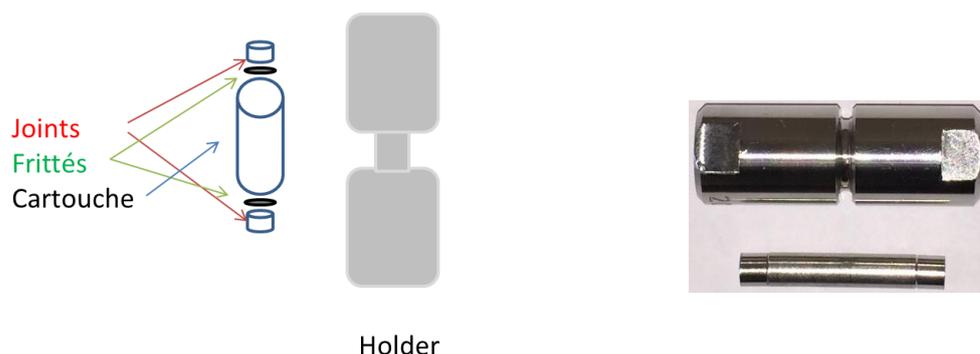


Figure 35: Dispositif BGB permettant de réaliser des cartouches SPE en ligne avec des phases stationnaires « à façon »

3.2.2.1.4.1 Cartouche Oasis HLB

Les performances d'une cartouche Oasis HLB, préparée au laboratoire grâce à ce dispositif, ont été étudiées avec environ 20 mg de phase. Des cartouches Oasis HLB utilisées en SPE hors ligne (200 mg, 30 μm) ont été ouvertes afin de récupérer la phase SPE. Cette dernière a été introduite dans la cartouche SPE « à façon », à l'aide d'une micro spatule. La masse a été contrôlée par gravimétrie. La publication n°2 et la partie 3 du chapitre 3 dévoilent les résultats obtenus avec cette cartouche.

3.2.2.1.4.2 Cartouche multicouche

Une cartouche multicouche a été fabriquée au sein du laboratoire. Elle est composée d'une première couche (~10 mg) en Oasis HLB et d'une seconde couche (~10 mg) composée d'un mélange Strata X-AW (*Phenomenex*), Strata X-CW (*Phenomenex*) et Isolute ENV + (*Biotage*) (1/1/1,5). Entre les 2 couches, aucun fritté n'a été placé (Figure 36).

Des cartouches utilisées en SPE hors ligne ont été ouvertes afin de récupérer les phases SPE. La phase HLB provenait d'une cartouche Oasis HLB commercialisée par *Waters* (200 mg, 30 μm). Les phases Strata-X-AW et Strata-X-CX provenaient des cartouches commercialisées par *Phenomenex* (33 μm). La phase Isolute ENV + est issue d'une cartouche commercialisée par *Biotage* (1 g). Les cartouches ont été tassées manuellement.

Les résultats sont présentés dans la partie 3 et dans la publication n°2 du chapitre 3.



Figure 36 : Représentation du sens de la phase mobile et de la cartouche multicouche

3.2.2.2 Détermination du volume de fuite

Afin de déterminer le volume de fuite de chaque composé, une solution d'eau milliQ dopée à 1 000 ng/L a été injectée dans différents volumes : 100, 200, 300, 500, 750¹¹ et 900 μ L sur les cartouches Oasis HLB « commerciale », PLRP, Oasis HLB « à façon » et multicouche. La partie 3 du chapitre 3 ainsi que la publication n°2 détaillent les résultats obtenus.

¹¹ Ce volume n'a pas été injecté pour les 2 premières cartouches. Au vu des résultats obtenus sur les 2 premières cartouches, ce volume a été ajouté dans les manipulations suivantes pour avoir précisément le volume de fuite des composés.

4 Analyses par chromatographies en phase gazeuse et en phase liquide couplées à la spectrométrie de masse

Avant de démarrer les extractions par SPE, plusieurs essais visant à améliorer les conditions chromatographiques (gazeuse et liquide) ont été réalisés. Le but de ces développements a été, dans un premier temps de détecter chaque composé avec une technique analytique, non totalement optimisée mais suffisamment sensible pour permettre la détection des composés tout comme pour évaluer les performances des expériences en SPE. Ainsi, tous les composés de la liste modèle (Annexe 2) ont été injectés sans exception en chromatographie en phase liquide et gazeuse. Les parties suivantes présenteront les composés qui ont été détectés en LC-QqQ et GC-MS.

Par ailleurs, pour limiter le nombre et le temps d'analyses, certains choix et compromis (notamment au niveau des intensités) ont été effectués en privilégiant des analyses en C18. La GC-MS a été surtout employée pour les composés ne pouvant pas s'ioniser en LC-QqQ. Les contaminants qui seront choisis pour être analysés par la méthode en GC-MS sont présentés dans le chapitre 3, dans la partie 1.

4.1 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)

4.1.1 Principe de la méthode

La chromatographie en phase gazeuse (GC) est une technique très répandue pour l'analyse de polluants organiques volatils ou semi-volatils. Leur séparation, au niveau de la colonne, est réalisée à partir d'espèces chimiques à l'état gazeux. L'échantillon doit être vaporisé, par chauffage, en tête de colonne. Il faut donc que les composés soient suffisamment volatils et thermiquement stables. Les composés sont ensuite analysés par un détecteur. Dans cette thèse, un spectromètre de masse simple quadrupôle a été utilisé.

Arrivés au détecteur, les composés sont ionisés. Dans cette étude, l'ionisation par impact électronique (E.I) a été employée. L'ionisation est dite « dure » et se réalise sous vide. Du fait que les paramètres de détection sont fixes, les spectres de masse obtenus sont reproductibles et de nombreuses bases de données ont ainsi été constituées.

En GC-MS, deux modes d'acquisition ont été utilisés. Dans un premier temps, les composés ont été analysés en mode « full scan » : les ions ayant des rapports m/z sont observés dans

une fourchette de masses données. Grâce à ce mode, le temps de rétention et les principaux fragments¹² du composé parent sont obtenus. Dans un second temps, pour obtenir une acquisition sélective et permettre d'atteindre des limites de détection plus basses, le mode « Selected Ion Monitoring » (SIM) est employé. A l'aide du temps de rétention du composé à analyser, une fenêtre de temps est sélectionnée. Dans cette dernière, il est indiqué la masse de l'ion à observer. Cette masse correspond à un fragment de l'ion moléculaire.

4.1.2 Méthode analytique développée

Pour les analyses en mode « full scan » et SIM, les composés ont été préparés dans l'ACN à 1 mg/L. Tous les composés de la liste (Annexe 2) ont été injectés en GC-MS (TRACE GC Ultra couplée à un MS DSQ II, *Thermo Fisher Scientific*). La colonne utilisée est une Rxi[®] 5 sil MS (60 m; 0,25 mm ID; 0,25 μ m), *Restek*. Le volume d'injection est de 1 μ L. Le gradient de température du four est présenté Figure 37. La température d'injection est de 280 °C. Le temps d'analyse est de 45 min. La température de la source est de 250 °C. Celle de la ligne de transfert est de 320 °C. Les composés ont été injectés dans un liner Splitless (5 mm ID, 105 mm), *Thermo Scientific*.

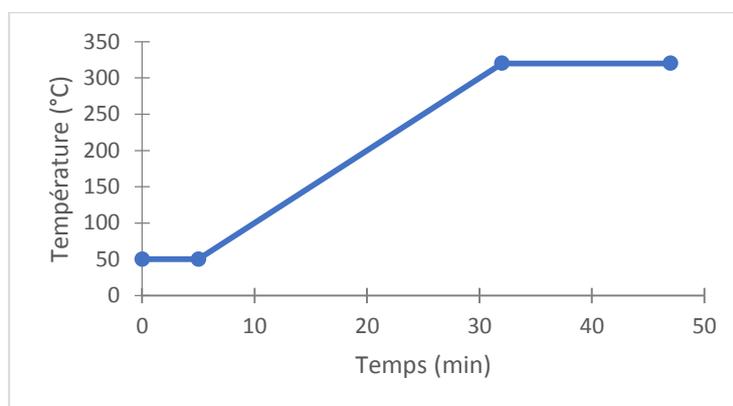


Figure 37 : Représentation du gradient de température du four

Les contaminants détectés par la méthode en GC-MS sont présentés Tableau 23.

¹² Lors de l'ionisation, la molécule absorbe une très grosse énergie, devient instable et se fragmente par la suite.

Tableau 23 : Présentation des composés détectés par la méthode en GC-MS

| Composés | | | |
|------------------------------|----------------------|-------------------|-------------------|
| 4-nonylphénol | DBP | Fipronil | PCB 156 |
| Acénaphène | 2,4'-DDE | Fluroxypyr-meptyl | Pyrimiphos méthyl |
| Acétochlore | Diflufénican | Flusilazole | Tria-allate |
| Benzo(a)pyrène | Diisodécyle phtalate | Heptachlore | Clothrimazole |
| Bisphénol A | Diméthoate | Métrodinazole | Estrone |
| 4-Methylbenzylidène camphore | Epoxiconazole | Octinoxate | Oxadiazon |

4.2 Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS)

La chromatographie en phase liquide est utilisée afin de séparer un mélange de composés par entraînement grâce à un liquide (phase mobile), le long d'une colonne remplie d'une phase stationnaire. Les séparations sont basées sur les différences d'affinités des espèces entre ces phases non miscibles. Si les constituants du mélange ont des affinités différentes entre les deux phases, ils n'auront donc pas la même vitesse de migration. Plus l'affinité du soluté avec la phase stationnaire est grande, plus l'élution est lente.

Les analytes sont ensuite détectés en sortie de colonne par un spectromètre de masse. Les composés qui ont été séparés sont ionisés par électrospray (ESI) : un processus d'ionisation douce, qui permet, dans la majorité des cas, d'obtenir la molécule protonée ou déprotonée $[M +/- H]^{+/-}$.

Dans le cadre de cette thèse, trois spectromètres de masse en tandem (MS/MS) ont été utilisés¹³. La spectrométrie de masse en tandem fait appel à des appareils comportant au moins deux analyseurs en série avec, entre eux, une cellule de collision. Deux types d'analyseur peuvent être distingués : les analyseurs basse résolution et haute résolution.

Dans le cas d'un analyseur basse résolution de type triple quadrupôle (QqQ), le mode « Multiple Reaction Monitoring » (MRM) a été sélectionné. Un ion précurseur est sélectionné dans le premier quadrupôle (Q1), fragmenté dans la cellule de collision (q2) par

¹³ Deux spectromètres de masse triple quadrupôles (QqQ) et un spectromètre de masse quadrupôle/temps de vol (QTOF)

un gaz inerte (hélium, argon ou diazote) et un ion produit est sélectionné dans le dernier quadrapôle (Q3).

Dans le cas d'un analyseur haute résolution de type quadrapôle/temps de vol (QTOF), 2 modes ont été sélectionnés : « full scan » et MRM. Le dernier mode a été utilisé pour obtenir des fragments afin de conforter l'identification des substances détectées.

4.2.1 Analyse en mode ciblée (basse résolution) avec un analyseur triple quadrapôle (LC-QqQ)

4.2.1.1 Méthodes analytiques développées

L'influence de la phase mobile sur la réponse spectrométrique a été étudiée. Les phases mobiles utilisées sont généralement un mélange d'eau (polaire) et d'un co-solvant organique [le méthanol (MeOH) ou l'acétonitrile (ACN) sont principalement employés].

Les études bibliographiques ont montré que les phases aqueuses couramment employées sont l'acide formique (HCOOH) et l'acétate d'ammonium (Annexe 1). Ainsi, pour ce travail de thèse, plusieurs phases mobiles ont été utilisées :

Solvants :

- ✓ MeOH
- ✓ ACN

Phase mobiles :

- ✓ H₂O (Eau MilliQ)
- ✓ H₂O + 10 mM d'acétate d'ammonium
- ✓ H₂O + 0,1 % d'acide formique

La phase mobile utilisée lors des premiers développements était constituée d'un mélange H₂O/ACN. Cependant, pour favoriser l'ionisation en solution, plusieurs phases aqueuses ont été employées. L'ajout d'acide formique ou d'acétate d'ammonium a été utilisé pour modifier et fixer le pH de la solution, favorisant ainsi la protonation ou la déprotonation des composés. Ainsi, la réponse spectrométrique des composés analysés est augmentée, le signal est beaucoup plus intense et les analyses de traces, voire d'ultra traces, sont beaucoup plus sensibles.

En fonction du pH de la phase mobile, les composés polaires peuvent se trouver sous divers formes (ionique et/ou neutre). Ainsi, le pH de la phase mobile influence également leur temps de rétention et forme des pics chromatographiques.

4.2.1.1.1 Colonne à phase inverse

La colonne Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm) (*Phenomenex*) a été utilisée pour réaliser les développements chromatographiques et les analyses des expériences par SPE hors et en ligne. La taille de la colonne, ainsi que le diamètre des particules, ont été aussi des critères considérés dans le choix de la colonne. En effet, le paramètre limitant (surtout en SPE en ligne, où une phase mobile à base de méthanol a été utilisée) a été la pression. Par conséquent, une colonne trop longue (ex : 15 cm) avec un diamètre de particule très petit (ex : 1,7 µm) aurait généré trop de pression. De ce fait, un support de 10 cm a été choisi, avec un diamètre de particule de 2,6 µm.

Tous les composés ont été analysés à une concentration de 100 µg/L. Ils ont été dilués dans les conditions de début de gradient. L'ionisation par électrospray positif ou négatif [ESI (+) et ESI (-)], i) pH non ajusté, ii) avec phase aqueuse composée de 0,1 % d'HCOOH et iii) avec une phase aqueuse composée de 10 mM d'acétate d'ammonium a été employé. Deux solvants organiques ont également été testés avec chaque condition (avec ou sans ajustement du pH) : MeOH et ACN.

Le gradient d'élution pour les analyses LC-QqQ, sur la colonne Kinetex C18, est présenté Tableau 24.

Tableau 24 : Gradient d'élution utilisé en LC-QqQ C18

| Temps (min) | A % (H ₂ O) | B % (Solvant) |
|----------------|---------------------------|------------------|
| 0 | 95 | 5 |
| 10 | 0 | 100 |
| 15 | 0 | 100 |
| 15,1 | 95 | 5 |
| 19 | 95 | 5 |

Le débit de phase mobile était de 0,3 mL/min, la température d'injection de 40 °C et le volume d'injection de 5 µL.

Le Tableau 25 dévoile les conditions chromatographiques et les paramètres de MS (source) pour tous les développements réalisés pendant cette thèse. Les paramètres de masse sont différents en fonction de chaque appareil. L'emploi du triple quadrupôle 6460 (*Agilent*) nécessite des paramètres de sources (sheat gaz et fragmentor) pour chaque composé. Les valeurs du fragmentor par composé sont présentés dans l'Annexe 6.

Tableau 25 : Paramètres utilisés en LC-QqQ C18

| Analyse | LC | | | | | | MS | | | | | | | Partie résultat |
|----------------------------------|--|-----------------------------|----------------|-------------|---|-----------------|---|---------------------------------|--------------------------|------------------|----------------------|--------------------------------|-----------------------------------|----------------------|
| | Colonne | V _{injection} (µL) | Débit (mL/min) | T°C colonne | Phase aqueuse testée | Solvants testés | | | | | | | | |
| Optimisations des phases mobiles | Kinetex C18 (100*2,1mm; 2,6 µm) (Phenomenex) | 5 | 0,3 | 40 | H ₂ O (Eau MilliQ) | MeOH ACN | Acquity TQ Detector, (Waters) | | | | | | | Chapitre 3, partie 1 |
| | | | | | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium | | Paramètre | Tension du capillaire (kV) | Extracteur (V) | T°C source (°C) | Désolvatation T°C | Débit Gaz de Cone (L/Hr) | Débit Gaz de désolvatation (L/Hr) | |
| SPE hors ligne | Kinetex C18 (100*2,1mm; 2,6 µm) (Phenomenex) | 5 | 0,3 | 40 | H ₂ O + 0,1 % d'acide formique | MeOH | Valeur ESI +/- | 3 | 3 | 150 | 400 | 500 | 800 | Chapitre 3, partie 2 |
| SPE en ligne | Kinetex C18 (100*2,1mm; 2,6 µm) (Phenomenex) | - | 0,3 | 40 | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium | MeOH | 6460 triple quadrupôle (Agilent) | | | | | | | Chapitre 3, partie 3 |
| | | | | | | | Paramètre | Température du gaz séchant (°C) | Flow gaz séchant (L/min) | Nébuliseur (psi) | T°C du « sheat gas » | Débit du « sheat gas » (L/min) | Capillaire (V) | |
| | | | | | | | Valeur ESI +/- | 300 | 8 | 40 | 400 | 11 | 3000 | 0 |

Tous les composés analysés avec la méthode C18 sont présentés Tableau 26.

Tableau 26 : Composés analysés par la méthode LC-C18

| Molécules | | | |
|------------------------------|-------------------|----------------------|----------------------|
| Dicamba | Octinoxate | Thiram | Fipronil |
| Cyclophosphamide | Ampicilline | Tri-allate | TBBPA |
| Erythromycine | Clothianidin | Trichlorfon | PFDaA |
| Nonyl phénol | Clotrimazole | Deltaméthrine | PFOS |
| Oxazepam | Diflufénican | DBP | Bisphénol A |
| Métronidazole | Diméthoate | Carbamazépine | 1-Hydroxy Ibuprofène |
| Paracétamol | Epoconazole | Diclofénac | Tétracycline |
| 4-Methylbenzylidene camphore | Fluroxypyr-meptyl | Oxadiazon | Estrone |
| Acétamipride | Flusilazole | Diisodecyl phthalate | |
| Irganox 1076 | Lincomycin | Bromoxynil | |
| 4-n-nonylphenol diethoxylate | Pyrimiphos-méthyl | Diethylstilbestrol | |

4.2.1.1.2 Colonne HILIC (hydrophilic interaction chromatography)

Pour les molécules non retenues sur les colonnes C18, des colonnes de type HILIC peuvent être employées. Ce mode combine les avantages de la chromatographie de mode normal (rétention et séparation des composés polaires) avec ceux du mode inverse (utilisation d'un solvant organique et d'une phase aqueuse).

La colonne HILIC utilisée est l'Ascentis® Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), *Supelco*. Cette colonne est basée sur une conception de particules Fused-Core® (contrairement à une particule totalement poreuse, il y a un noyau). Cette technologie fournit une couche mince poreuse de silice de haute pureté entourant un solide noyau de silice. Ce système présente une efficacité de colonne très élevée car les voies de diffusion sont peu profondes dans l'enveloppe poreuse (0,5 µm d'épaisseur). La taille des particules est de 2,7 µm. La phase stationnaire est composée de silice pure.

Le Tableau 27 met en évidence le gradient d'élution utilisé lors de l'analyse sur cette colonne. Pour ces analyses, la solution étalon des composés a été préparée dans l'ACN à 100 µg/L à partir d'une dilution des solutions mères.

L'influence de la phase aqueuse et du solvant n'a pas été réalisée.

Tableau 27 : Gradient d'élution utilisé lors de l'analyse en mode HILIC par LC-QqQ

| Temps (min) | A % | B % |
|----------------|-----|-----|
| 0 | 99 | 1 |
| 10 | 99 | 1 |
| 15 | 40 | 60 |
| 15,1 | 40 | 60 |
| 19 | 99 | 1 |
| 19 | 99 | 1 |

A : ACN

B : H₂O + 20 mM d'acétate d'ammonium ajusté à pH = 3.

5 µL de la solution des composés ont été injectés avec un débit de 0,3 mL/min à une température de colonne de 40 °C. Le Tableau 28 présente les différents paramètres chromatographiques et MS utilisés lors de ces travaux de thèse.

Tableau 28 : Paramètres LC-QqQ employés lors des développements en HILIC

| Analyses | LC | | | | | | MS | | Partie résultat |
|----------------------------------|--|-----------------------------|----------------|-------------------|--|---------------|---|------------------------------|----------------------|
| | Colonne | V _{injection} (µL) | Débit (mL/min) | T°C de la colonne | Phase aqueuse testée | Solvant testé | Acquity TQ Detector, (Waters) | | |
| Optimisations des phases mobiles | Ascentis® Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), Supelco | 5 | 0,3 | 40 | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH ajusté à 3 avec de l'acide acétique) | ACN | Paramètres Tension du capillaire (kV) | Valeur ESI +/- 3 | Chapitre 3, partie 1 |
| SPE hors ligne | Ascentis® Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), Supelco | 5 | 0,3 | 40 | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH ajusté à 3 avec de l'acide acétique) | ACN | Extracteur (V) T°C source (°C) Désolvatation T°C Débit Gaz de Cone (L/Hr) Débit Gaz de désolvatation (L/Hr) | 3 150 400 50 800 | |

Les composés détectés par la méthode HILIC sont énumérés Tableau 29.

Tableau 29 : composés analysés en LC-QqQ HILIC

| Molécules | | | |
|--------------------------|---------------|----------------------|---------------|
| Acide acétylsalicylique | Metformine | Lincomycine | Erythromycine |
| Acide monochloroacétique | Métronidazole | Clotrimazole | |
| Dicamba | Paracétamol | 1-Hydroxy Ibuprofène | |
| Aminotriazole | Ampicilline | Diclofénac | |
| Cyclophosphamide | Oxazépame | Carbamazépine | |

4.2.1.1.3 Colonne mixte

Un support alternatif à la HILIC et au C18 a été évalué. Il s'agit d'une colonne mixte qui comporte plusieurs phases (phases inverse, échange d'anions et de cations et ASCENTIS® EXPRESS HILIC) sur un seul et unique support : l'Acclaim Trinity P1 (3 µm ; 2,1*150 mm), *Thermo Fisher Scientific*.

La phase stationnaire Acclaim Trinity P1, basée sur la technologie Nanopolymer Silica Hybrid (NSH), est constituée de particules de silice sphériques poreuses de 3 µm de haute pureté, recouvertes de billes de nanopolymères chargées. Elle comprend une zone de pores internes modifiée avec une couche organique qui fournit à la fois des propriétés de phase inverse et d'échange d'anions. La surface des pores extérieurs, à l'inverse, est modifiée avec la fonctionnalité d'échange de cations.

Différentes phases aqueuses n'ont pas été testées. Pour tenter d'améliorer la réponse spectrométrique, seuls les solvants organiques l'ont été (MeOH et ACN).

Le Tableau 30 présente le gradient d'élution utilisé lors du développement. Tous les composés ont été analysés avec une phase aqueuse constituée d'eau à 20 mM d'acétate d'ammonium ajusté avec de l'acide acétique à pH=3.

Tableau 30 : Gradient d'élution utilisé pour la colonne Acclaim Trinity P1 par LC-QqQ

| Temps (min) | A % | B % |
|----------------|-----|-----|
| 0 | 5 | 95 |
| 10 | 50 | 50 |
| 15 | 50 | 50 |
| 15,1 | 5 | 95 |
| 19 | 5 | 95 |

A : ACN

B : H₂O + 20 mM d'acétate d'ammonium ajusté à pH = 3.

L'analyse s'est déroulée avec un débit de 0,3 mL/min à une température de colonne de 40 °C. Le volume d'injection a été de 5 µL. Les solutions étalons ont été préparées dans les conditions de début de gradient à 100 µg/L. Le Tableau 31 présente les paramètres utilisés pour l'analyse en LC-QqQ Trinity.

Tableau 31 : Paramètres utilisés en LC-QqQ Trinity

| Analyses | LC | | | | | | MS | | Partie résultat |
|----------------------------------|---|-----------------------------|----------------|-------------------|--|----------------|-----------------------------------|-----------------------|----------------------|
| | Colonne | V _{injection} (µL) | Débit (mL/min) | T°C de la colonne | Phase aqueuse testée | Solvant testés | Acquity TQ Detector, (Waters) | | |
| Optimisations des phases mobiles | Acclaim Trinity P1 (3 µm ; 2,1*150 mm), <i>Thermo Fisher Scientific</i> | 5 | 0,3 | 40 | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH ajusté à 3 avec de l'acide acétique) | ACN MeOH | Paramètres | Valeur ESI +/- | Chapitre 3, partie 1 |
| | | | | | | | Tension du capillaire (kV) | 3 | |
| | | | | | | | Extracteur (V) | 3 | |
| | | | | | | | T°C source (°C) | 150 | |
| | | | | | | | Désolvatation T°C | 400 | |
| | | | | | | | Débit Gaz de Cone (L/Hr) | 50 | |
| | | | | | | | Débit Gaz de désolvatation (L/Hr) | 800 | |

Tous les composés détectés par la méthode Trinity sont listés Tableau 32.

Tableau 32 : Composés analysés par la méthode LC-QqQ Trinity

| Molécules | | |
|------------------------------|-------------------|----------------------|
| Acide acétylsalicylique | Octinoxate | Tétracycline |
| Acide monochloroacétique | Ampicilline | Thiram |
| Aminotriazole | Clothianidin | Tri-allate |
| Cyclophosphamide | Clotrimazole | Trichlorfon |
| Oxazépam | Diflufénican | Deltaméthrine |
| Métronidazole | Diméthoate | DBP |
| Paracétamol | Epoxiconazole | Carbamazépine |
| 4-Methylbenzylidène camphore | Fluroxypyr-meptyl | Oxadiazon |
| Acétamipride | Flusilazole | Diisodecyl phthalate |
| Irganox 1076 | Lincomycine | Diethylstilbestrol |
| 1-Hydroxy Ibuprofène | Pyrimiphos-méthyl | Estrone |
| Glyphosate | TBBPA | Fipronil |

4.2.2 Analyse en mode non ciblée (haute résolution) avec un analyseur hybride quadrupôle/temps de vol (LC-QTOF)

Pour ces travaux de thèse, les études non ciblées ont été menées sur un LC 1290 (Agilent Technologie) couplée à un QTOF 6550 ifunnel (Agilent Technologie) (Figure 38)

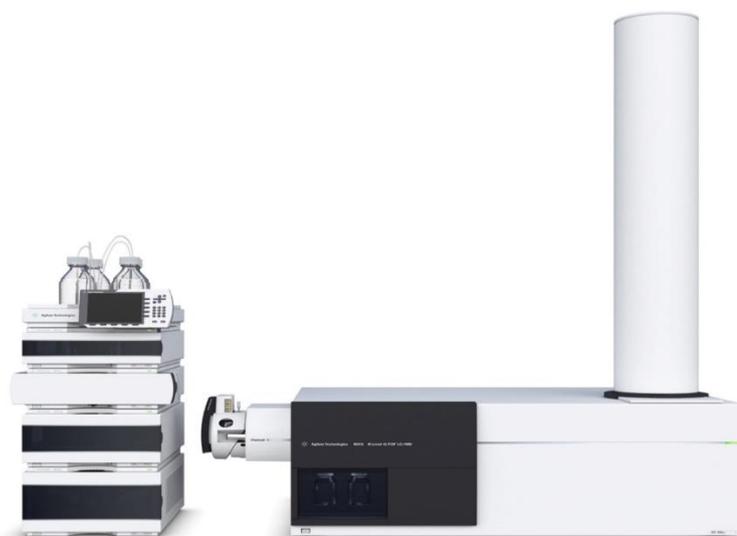


Figure 38 : LC (1290) couplée à un QTOF (6550) ifunnel (LC-QTOF), Agilent Technologie

4.2.2.1 Intérêts des analyseurs haute résolution pour de l'analyse non ciblée

Les analyseurs basse résolution ne permettent qu'une mesure unitaire de la masse des ions générés dans la source d'ionisation. De ce fait, il n'y a aucune précision sur la valeur des masses des ions mesurées (ex. 28 unités de masse (u.) pour un ion issu d'une molécule de diazote ou de monoxyde de carbone, 32 u. pour la molécule de dioxygène). Ceci ne permet aucune discrimination fine, lorsque certains composés ne diffèrent que par quelques millièmes ou même quelques dixièmes d'unité de masse.

La Figure 39 ci-dessous illustre ce concept. Ainsi, un spectromètre de masse basse résolution ne permettra pas de séparer les masses de 2 composés ayant la même masse unitaire. L'emploi d'un analyseur haute résolution est donc conseillé pour pouvoir distinguer 2 contaminants de même masse unitaire.

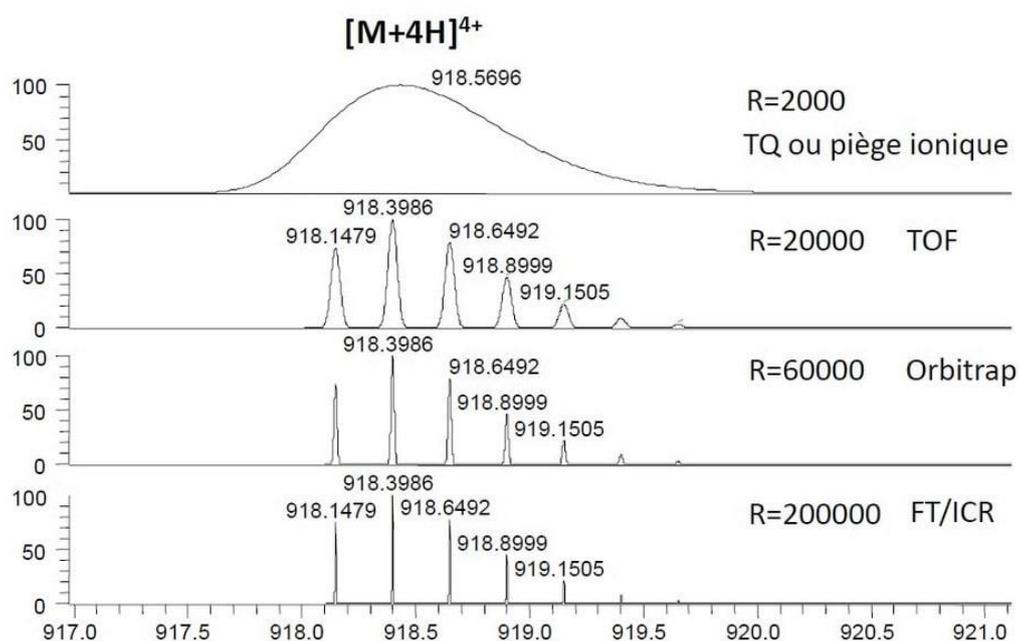


Figure 39 : Illustration de l'importance de la résolution en masse entre les différents analyseurs (Spectrométrie de masse).

Parmi les analyseurs haute résolution (résolution spectrométrique > 10 000), l'orbitrap ou le Time Of Flight (TOF) sont les plus couramment employés. Les analyseurs haute résolution sont utilisés pour les analyses de type non ciblées.

Pour réaliser ce type d'étude, une première analyse en mode « full scan » est généralement employée pour détecter tous les composés sans discrimination (contrairement aux

analyseurs basse résolution, l'utilisation de ce mode permet d'atteindre des valeurs de sensibilité très faibles). Puis, dans une seconde analyse, les composés détectés et suspectés sont analysés en mode MRM pour un complément d'identification grâce aux fragments.

4.2.2.2 Méthodes analytiques développées

Un essai inter-laboratoire, chapitre 4 partie 1, sur la détection de 20 composés polaires, a été réalisé sur le LC-QTOF en analyse « full scan ». Pour cela, les méthodes SPE hors ligne utilisant la cartouche multicouche (chapitre 2 section 3.1.3.3.2) et Oasis HLB (chapitre 2 section 3.1.3.1) ont été employées. Les extraits ont été analysés par les méthodes :

- ✓ C18 : H₂O + 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH
- ✓ HILIC : H₂O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH ajusté à 3 avec de l'acide acétique) / ACN

Une solution étalon, comprenant les composés polaires pour cet essai, a été envoyée à tous les participants (Tableau 33).

Tableau 33 : Composés analysés lors de l'essai inter-laboratoire NORMAN

| Famille | Composés | Log D pH = 3 | Log D pH = 6,7 |
|--------------------------|---|-----------------|-------------------|
| Produits pharmaceutiques | 5-fluoro cytosine | -0,95 | -0,96 |
| Acide aminé | arginine | -6,25 | -5,46 |
| Produits pharmaceutiques | arprinocid | 1,41 | 2,16 |
| Produits pharmaceutiques | benzocaïne | 1,3 | 1,5 |
| Alcaloïdes | betaine | -3,78 | -3,72 |
| Produits pharmaceutiques | cétirizine | 0,39 | 0,83 |
| Produits phytosanitaires | cyanoguanidine | -1,03 | -1,03 |
| Produits pharmaceutiques | diethanolamine | -4,08 | -3,97 |
| Explosif | guanylurea | -4,55 | -2,09 |
| Produits pharmaceutiques | hexamethylenetetramine (urotropine) | -3,5 | 0,28 |
| Produits pharmaceutiques | imidocarb | -3,21 | -2,8 |
| Produits pharmaceutiques | iohexol | -1,95 | -1,95 |
| Acide aminé | L-asparagine | -4,32 | -4,29 |
| Résine | melamine | -2,58 | -2,15 |
| Produits pharmaceutiques | metformin | -3,66 | -3,66 |
| Produits pharmaceutiques | oxycodone | -2,48 | -0,48 |
| Produits pharmaceutiques | salbutamol | -2,36 | -1,88 |
| Produits pharmaceutiques | salicylic acid | 1,62 | -1,4 |
| Edulcorant | sucralose | -0,45 | -0,45 |
| Produits pharmaceutiques | trimethyl-(2-prop-2-enoyloxyethyl)azanium | -3,23 | -3,23 |
| Anti-convulsant | vigabatrin | -2,8 | -2,1 |

Des développements de méthodes chromatographiques supplémentaires ont été réalisés sur le LC-QTOF en vue des analyses non-ciblées (en mode suspect « screening »). Le gradient chromatographique, les phases mobiles, ainsi qu'une autre colonne [Agilent ZORBAX SB-Aq (1,8 µm, 2,1 x 150 mm)], ont été évaluées (Tableau 34). Les analyses ont été réalisées avec un débit de 0,4 ml/min et avec une température de colonne de 40 °C. Les LQ instrumentales ont été déterminées sur cet appareil (chapitre 4, partie 2).

Une application des méthodes SPE hors ligne a également été réalisée dans cette partie en analyse non ciblée (en mode suspect « screening »). Les conditions chromatographiques et de source sont détaillées ci-dessous (Tableau 34).

Tableau 34 : Présentation des différents paramètres évalués pour les analyses non ciblées en LC-QTOF 6550 ifunnel.

| Analyse | LC | | | | | | | MS | | | Partie résultat |
|----------------------------------|--|--|-----------------------------|-------|-------------|-----------------------------|---|--|---|---|-----------------------|
| | Colonne | Phase aqueuse | Solvant organique | Débit | T°C colonne | V _{injection} (µL) | Gradient | 6550 QTOF ifunnel | | | |
| Optimisation des paramètres QTOF | Kinetex C18 (2,6µm; 100 x 2,1mm) | H ₂ O + 10mM Acétate d'Ammonium (pH=6,82) | MeOH | 0,4 | 40 | 5 | T _{0min} : 95/5, T _{10min} : 0/100, T _{15min} : 0/100 | Paramètres Température du « sheat gas » (°C) Débit du « sheat gas » (L/min) Pression de nébulisation (psig) Tension au capillaire (V) Tension au « nozzle » (V) Température du gaz séchant (°C) Flow du gaz séchant (L/min) Fragmentor (V) | ESI (+) 390 12 30 3500 0 200 17 365 | ESI (-) 350 12 30 3500 0 200 15 365 | Chapitre 4 , partie 2 |
| | Agilent ZORBAX SB-Aq (1,8µm ; 2,1 x 150mm) | H ₂ O + 1mM Acétate d'Ammonium + 0,1% acide acétique (pH=3,35) | ACN + 0,1% d'acide acétique | 0,4 | 40 | 5 | T _{0min} : 100/0, T _{2min} : 100/0, T _{14min} : 2/98, T _{16min} : 2/98, T _{19min} : 100/0, T _{19.50min} : 100/0 | | | | Chapitre 4 , partie 2 |
| | Agilent ZORBAX SB-Aq (1,8µm ; 2,1 x 150mm) | H ₂ O + 10mM Acétate d'Ammonium (pH=6,82) | MeOH | 0,4 | 40 | 5 | T _{0min} : 100/0, T _{2min} : 100/0, T _{14min} : 2/98, T _{16min} : 2/98, T _{19min} : 100/0, T _{19.50min} : 100/0 | | | | Chapitre 4 , partie 2 |
| | Agilent ZORBAX SB-Aq (1,8µm, 2.1 x 150mm) | H ₂ O + 1mM Acétate d'Ammonium (pH=6,27) | MeOH | 0,4 | 40 | 5 | T _{0min} : 100/0, T _{2min} : 100/0, T _{14min} : 2/98, T _{16min} : 2/98, T _{19min} : 100/0, T _{19.50min} : 100/0 | | | | Chapitre 4 , partie 2 |
| Sensibilité (injection directe) | Agilent ZORBAX SB-Aq (1,8µm, 2.1 x 150mm) | H ₂ O + 1mM Acétate d'Ammonium (pH=6,27) | MeOH | 0,4 | 40 | 5 | T _{0min} : 100/0, T _{2min} : 100/0, T _{14min} : 2/98, T _{16min} : 2/98, T _{19min} : 100/0, T _{19.50min} : 100/0 | | | | Chapitre 4 , partie 2 |
| Essai inter-laboratoire NORMAN | Kinetex C18 (100*2,1mm; 2,6 µm) (Phenomenex) | H ₂ O + 10mM Acétate d'Ammonium (pH=6,82) | MeOH | 0,3 | 40 | 5 | Tableau 24 | | | | Chapitre 4 , partie 1 |
| | Ascentis® Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), Supelco | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH ajusté à 3 avec de l'acide acétique) | ACN | 0,3 | 40 | 5 | Tableau 27 | | | | Chapitre 4 , partie 1 |
| Analyse non ciblée | Agilent ZORBAX SB-Aq (1,8µm, 2.1 x 150mm) | H ₂ O + 1mM Acétate d'Ammonium (pH=6,27) | MeOH | 0,4 | 40 | 5 | T _{0min} : 100/0, T _{2min} : 100/0, T _{14min} : 2/98, T _{16min} : 2/98, T _{19min} : 100/0, T _{19.50min} : 100/0 | | | | Chapitre 4 , partie 2 |

5 Expressions des résultats

5.1 Détermination des rendements par SPE hors ligne

Pour déterminer les rendements d'extraction en SPE hors ligne, deux extractions distinctes, une avec un échantillon dopé à 1000 ng/L et une seconde sans dopage de l'échantillon (blanc) ont été réalisées. L'extrait correspondant à l'échantillon non-dopé est ensuite dopé après extraction. Un rapport entre les aires des échantillons dopés avant et après extraction est ensuite effectué. Chaque analyse a été effectuée en triplicat.

5.2 Détermination des sensibilités de l'analyse

Pour estimer les performances des extractions en SPE en ligne et hors ligne, des estimations de sensibilité ont été réalisées.

Pour ces travaux, elle a été évaluée quand la concentration d'un composé présente un rapport signal sur bruit (S/N) de 10. Le signal correspond à la hauteur du pic entre son sommet et sa base. Le bruit correspond à la fluctuation du signal émis par l'instrument lors de la mesure d'un blanc (Wells et al. 2011). Dans le cas de l'analyse d'un échantillon, sa mesure est choisie proche du pic d'intérêt. Ces déterminations sont des estimations et leur précision reste relative.

5.3 Détermination de la répétabilité

La répétabilité a été calculée grâce à l'écart type sur 3 répliques des analyses.

6 Retraitements des données

6.1 Retraitements des données par LC-QTOF

6.1.1 Critères de sélection en mode « full scan »

Lors d'une analyse en mode « full scan », les ions du courant ionique total (TIC) sont extraits à l'aide de plusieurs critères :

- ✓ le critère de masse. Les composés sont détectés en faisant une extraction des ions à partir de la masse de l'ion moléculaire $[M+/- H]^{+/-}$, les ions qui forment les adduits sodium $[M+Na]^+$ et ammonium $[M+NH_4]^+$, avec une précision de masse de +/- 10 ppm.
- ✓ le critère de temps de rétention. Un composé est détecté si le temps de rétention expérimental est égal à celui de la base de données avec un écart +/- 0,35 min.
- ✓ le score : un composé est détecté si son score est supérieur à 75. Ce score est la combinaison de plusieurs scores provenant du :
 - Score de masse : 100
 - Abondance isotopique : 50
 - Espacement des isotopes : 60
 - Temps de rétention : 100

2 bases de données ont été utilisées :

- ✓ la PCDL Water_AMRT comprenant 1451 substances, dont environ les $\frac{3}{4}$ avec des spectres MS/MS, fournie par Agilent
- ✓ la base de données interne, générée au laboratoire avec les conditions d'analyses sélectionnées dans la partie 2 du chapitre 4.

6.1.2 Critère de sélection en mode « target MS/MS »

En mode « target MS/MS », les spectres expérimentaux obtenus pour chaque composé sont comparés aux spectres contenus dans les bases de données. Ainsi, 2 critères d'identification sont utilisés :

- ✓ Score forward : 25 [rapport entre les spectres d'un composé (spectre expérimental) et ceux contenus dans la base de données. Il est généralement peu élevé car le spectre expérimental contient plus de bruit et donc de fragments parasites].
- ✓ Score reverse : 80 (rapport entre les spectres de la base de données et les spectres obtenus pour un composé dans l'échantillon).

6.1.3 Paramètres du QTOF ifunnel 6550 (Agilent technologies)

Les paramètres de source et d'acquisitions sont présentés Tableau 35.

Tableau 35 : Conditions des paramètres spectrométriques du QTOF

| | Mode | ESI (+) | ESI (-) |
|---------------------------------|-----------------------------------|---|---|
| Paramètres source | Température du « sheat gas » (°C) | 390 | 350 |
| | Débit du « sheat gas » (L/min) | 12 | 12 |
| | Pression de nébulisation (psig) | 30 | 30 |
| | Tension au capillaire (V) | 3500 | 3500 |
| | Tension au « nozzle » (V) | 0 | 0 |
| | Température du gaz séchant (°C) | 200 | 200 |
| | Flow du gaz séchant (L/min) | 17 | 15 |
| | Fragmentor (V) | 365 | 365 |
| Paramètres d'acquisition | Gamme de masse (m/z) | 30-1050 | 30-1050 |
| | Références de calibration | 121,0508 et 922.00979 | 112,9855 ; 980,0163 ; 1033,9881 |
| | Nombre de scan ((spectre/sec) | 4 | 4 |
| | Ifunnel (V) | Funnel Exit DC : 50 Funnel RF HP: 200 Funnel RF LP: 100 | Funnel Exit DC : 50 Funnel RF HP: 200 Funnel RF LP: 100 |

6.2 Logiciels

Les logiciels utilisés sont présentés Tableau 36.

Tableau 36 : Présentation des logiciels d'acquisition et de traitement de données

| | GC-MS | LC-QqQ | LC-QTOF |
|------------------------------------|---|---|--|
| Spectromètre de masse | DSQ II MS (<i>Thermo Fisher Scientific</i>) | Agilent 6460, <i>Agilent Technology</i> | Acquity TQ Detector, <i>Waters</i> |
| Logiciel de pilotage | Xcalibur | Masshunter Workstation Data Acquisition | 6550 ifunnel Mass hunter Workstation Data Acquisition Qualitative analysis |
| Logiciel de traitement des données | Qual browser Quan browser Excel | QQQ analysis Excel | - Excel B.07.00 Excel |

Chapitre 3 : Résultats des développements de méthodes d'analyses pour des applications environnementales

| | |
|---|------------|
| Partie 1 : Développements des méthodes d'analyse par techniques de chromatographies couplées à la spectrométrie de masse (GC-MS et LC-QqQ) | 149 |
| 1 Développements de méthode en GC-MS..... | 149 |
| 2 Développements de méthodes en LC-QqQ..... | 149 |
| 2.1 Evaluations des conditions de séparation et de détection par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-QqQ) | 149 |
| 2.1.1 Optimisation des conditions de détection MS | 151 |
| 2.1.2 Rétention et forme des pics chromatographiques | 151 |
| 2.1.2.1 Colonne C18 : influence de la nature de la phase aqueuse et du solvant | 151 |
| 2.1.2.2 Colonne HILIC..... | 154 |
| 2.1.2.3 Colonne mixte : Acclaim Trinity | 156 |
| 2.1.3 Influence des phases mobiles et de la nature du solvant sur la détection des composés étudiés 160 | |
| 2.1.3.1 Colonne C18..... | 160 |
| 2.1.3.2 Colonne HILIC..... | 162 |
| 2.1.3.3 Colonne Trinity | 162 |
| 2.1.4 Bilan méthodologique de l'analyse en LC-QqQ..... | 163 |
| 3 Conclusions méthodologiques en LC-QqQ et GC-MS | 168 |
| Partie 2 : Développements en SPE hors ligne | 172 |
| 1 Etudes préliminaires | 173 |
| 1.1 Influence du solvant d'injection lors des étapes de SPE hors ligne | 173 |
| 1.1.1 Composés analysés en LC-QqQ C18 | 173 |
| 1.1.2 Contaminants analysés en LC-QqQ HILIC | 174 |
| 1.2 Influence de l'évaporation et de la resolubilisation des molécules lors du protocole SPE hors ligne .. | 176 |
| 1.2.1 Composés semi-volatils (GC-MS) | 176 |
| 1.2.2 Composés polaires (LC-QqQ HILIC) | 177 |
| 1.2.3 Composés semi-polaires et polaires (LC-QqQ C18)..... | 178 |
| 1.3 Conclusions méthodologiques..... | 179 |
| 1.4 Etude du volume de phase sur une cartouche SPE Oasis HLB | 180 |
| 1.5 Volume d'extraction de l'échantillon sur une cartouche Oasis HLB | 182 |
| 2 Développements en SPE hors ligne : synthèse des résultats de la Publication n°1 | 186 |
| 3 Influence de l'ajout d'un agent de chélation (cartouches Oasis HLB et multicouche) | 188 |
| 4 Sensibilité en LC-QqQ pour les cartouches Oasis HLB et multicouche | 193 |

| | |
|---|------------|
| Publication n°1 : <i>Evaluation of offline solid phase extraction approaches for the pre-concentration of a wide range of environmental pollutants in water matrices</i> | 195 |
| Partie 3 : Développements en SPE en ligne | 230 |
| 1 Limites de quantification de la méthode en injection directe..... | 232 |
| 2 Développements préliminaires de la méthode en SPE en ligne | 232 |
| 2.1 Analyse avec une cartouche Oasis HLB « commerciale » (3*20 mm ; 45 mg)..... | 232 |
| 2.2 Cartouche Oasis HLB spark | 235 |
| 2.3 Comparaison des cartouches PLRP et Oasis HLB « commerciale » (3*20 mm)..... | 236 |
| 2.3.1 Formes des pics | 237 |
| 2.3.2 Tests de linéarité et de sensibilité..... | 237 |
| 2.3.3 Limites de quantification (LQ) | 238 |
| 2.3.4 Détermination du volume de fuite..... | 239 |
| 2.4 Cartouches « à façon » | 242 |
| 2.4.1 Détermination des LQs..... | 243 |
| 2.4.2 Forme des pics obtenus avec les cartouches « à façon »..... | 244 |
| 2.4.3 Détermination du volume de fuite..... | 244 |
| 2.4.3.1 Volume de fuite de la cartouche Oasis HLB « à façon » | 245 |
| 2.4.3.2 Volume de fuite de la cartouche multicouche..... | 246 |
| 2.5 Conclusion méthodologique | 248 |
| 3 Développements de méthodes SPE en ligne : synthèse des résultats de la Publication n°2..... | 250 |
| Publication n°2: <i>Development of an on-line Solid Phase Extraction / liquid chromatography - mass spectrometry method for the detection of a wide range of environmental pollutants in surface waters</i>..... | 251 |
| Partie 4 : Comparaison des performances des méthodes développées en SPE hors ligne et SPE en ligne | 281 |
| 1 Sensibilité | 281 |
| 2 Comparaison des performances sur la cartouche Oasis HLB entre l'eau milliQ et de rivière (Oise) | 286 |
| 3 Comparaison des performances sur la cartouche multicouche entre l'eau milliQ et de rivière (Oise) . | 288 |
| 4 Bilan de la comparaison des méthodes en SPE hors ligne et en ligne | 291 |

Le chapitre 1 a posé la difficulté, recensée au travers de la littérature, à disposer d'une méthode « universelle » pour l'analyse d'une large gamme de polluants environnementaux aux propriétés physico-chimiques très variées. Chacune des étapes analytiques présente des risques d'être discriminante et donc d'obtenir une information finale qui ne reflète pas totalement la contamination réelle d'un échantillon. La complexité de cette tâche est, à l'heure actuelle, si importante que l'on ne peut prétendre que l'utilisation d'une combinaison de méthodes permettra seulement de s'approcher de cette information tout en étant parfaitement conscient que celle-ci comporte inévitablement des limites. Le but étant de les réduire au maximum.

Dans un premier temps, les composés ont été analysés en GC-MS. Une méthode permettant une analyse avec un niveau de sensibilité suffisant, pour évaluer les rendements d'extraction des composés modèles, a été mise en œuvre (partie 1 du chapitre 3).

Dans un second temps, les méthodes de chromatographie et de détection ont été réalisées sur un LC-MS/MS triple quadrupôle (LC-QqQ) (Partie 1 du chapitre 3). Suite à ces travaux, une stratégie analytique a été établie. Le but principal des développements sur le LC-QqQ a été également de mettre en place une méthode analytique, qui permette de détecter les analytes à des niveaux suffisamment sensibles pour leurs analyses après leurs extractions par SPE. L'objectif n'a donc pas été d'améliorer, au maximum de ses capacités, la méthode d'analyse, ni d'évaluer ses performances analytiques (en termes de sensibilité).

A la suite des développements réalisés en GC-MS et LC-QqQ, l'objectif a été de retenir une méthode d'analyse pour chaque composé, avec pour but de réduire au maximum le nombre de techniques nécessaires.

Pour détecter et atteindre des niveaux de concentration à l'état de traces, des méthodes de préconcentration sont nécessaires. Dans ces travaux de thèse, deux méthodes d'extraction ont été étudiées : la SPE hors ligne et en ligne. Leurs avantages et leurs inconvénients théoriques ont été présentés dans les chapitres précédents.

Les développements en SPE hors/en ligne ont été dans un premier temps effectués sur une première liste de 55 molécules modèles (chapitre 3 section parties 2 et 3). Suite à cela, des composés plus polaires ont été rajoutés à la liste initiale (publication n°1 et 2).

Pour les travaux par SPE hors ligne, plusieurs cartouches ont été évaluées et des essais d'extraction dans différents types d'eau ont été accomplis (publication °1).

En SPE en ligne, le test de plusieurs cartouches, avec une quantité et une nature de phase variées, a été réalisé. Les différents modes d'élution ont également été améliorés dans le but d'obtenir les meilleures sensibilités dans les diverses matrices étudiées (publication n°2).

Enfin, la comparaison des niveaux de sensibilités obtenus en SPE hors ligne et en ligne a été effectuée. Le but : déterminer si les méthodes développées peuvent être appliquées à des analyses environnementales.

Partie 1 : Développements des méthodes d'analyse par techniques de chromatographies couplées à la spectrométrie de masse (GC-MS et LC-QqQ)

1 Développements de méthode en GC-MS

Tous les composés de la liste initiale ont été analysés en GC-MS, en mode « full scan », pour sélectionner les ions de fragmentation les plus intenses et leur temps de rétention. Par la suite, ces derniers ont été analysés en mode SIM. En prévision des manipulations en SPE, les composés ont été dilués dans de l'acétonitrile, solvant compatible pour les injections en LC et GC (Figure 25).

Les ions de quantification et de qualification sélectionnés pour chaque composé ayant pu être détectés en GC/MS sont présentés Annexe 3.

Parmi les 55 composés suivis, 7 d'entre eux (acénaphène, 4 nonyl phénol, acétochlore, benzo(a)pyrène, PCB 156, heptachlore et DDE) sont analysés exclusivement en GC-MS (car les méthodes en LC-QqQ ne permettent pas l'ionisation de ces molécules organiques).

2 Développements de méthodes en LC-QqQ

2.1 Evaluations des conditions de séparation et de détection par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-QqQ)

Le but principal de ces travaux effectués sur un LC-QqQ [Acquity UPLC H-Class (*Waters*) couplé à un triple quadropôle (Acquity TQ Detector, *Waters*)] a été d'évaluer une méthode analytique qui permet de retenir et de détecter une large gamme de composés en obtenant le meilleur compromis en termes de sensibilité.

Dans cette optique, les paramètres de détection ont été réalisées dans un premier temps. Pour cela, les paramètres de source, ainsi que les transitions MRM et leurs énergies de collision, ont été déterminés.

Dans un second temps, les colonnes chromatographiques ont été évaluées. Les composés de la liste modèle ont des propriétés physico-chimiques diverses et variées (de très polaire à apolaire). De ce fait, pour tenter de retenir tous les composés de la liste modèle, trois phases stationnaires ont été étudiées :

- une phase de type C18. Comme constaté lors de l'étude bibliographique, ce type de phase est généralement utilisé pour les études de screening.

- une colonne de type HILIC, qui est plus adaptée pour les composés polaires.
- une colonne, aux propriétés mixtes, comprenant une combinaison de plusieurs groupements : C18, cationiques et anioniques.

Pour favoriser l'ionisation en détection MS, plusieurs phases aqueuses sont couramment employées en fonction des différents analytes étudiés. Ces dernières ont des pH différents, ainsi, cela favorise la protonation ou la déprotonation des composés. Avec un choix judicieux de phase mobile, la réponse spectrométrique des composés est augmentée, le signal est beaucoup plus intense et les analyses de traces, voire d'ultra-traces, sont accessibles. L'utilisation de phase mobile présentant différents pH a également une influence sur la rétention chromatographique des composés.

Les phases aqueuses employées pour ces travaux en C18 sont présentées Tableau 25. Tous les composés modèles ont été analysés en ESI (+) et (-) avec et sans modification du pH de la phase aqueuse ainsi qu'avec l'ACN comme co-solvant. Au vu des résultats préliminaires, l'influence du solvant organique (MeOH) a été uniquement testée avec une phase mobile composée en acétate d'ammonium.

Pour la colonne en mode mixte (Trinity), l'influence du solvant organique en combinaison avec la phase mobile composée en acétate d'ammonium a été également évaluée (Tableau 31). Par ailleurs, ces tests de solvant n'ont pas été menés en HILIC. Le principe de la HILIC fait que l'utilisation du MeOH n'est pas efficace.

La rétention chromatographique, ainsi que la forme des pics, ont d'abord été évaluées en fonction des phases stationnaires et des conditions d'élution. Puis les intensités des hauteurs des pics obtenues (pour le signal de tous les composés) ont fait l'objet d'une comparaison dans chaque condition.

Le but final étant de déterminer le nombre minimal de méthodes d'analyse nécessaires pour obtenir une bonne rétention chromatographique et une excellente réponse spectrométrique pour la plus large gamme de composés possible.

Enfin, pour s'assurer de la symétrie des pics des analytes, lors de leurs injections en chromatographie, des tests sur les solvants de reprise, et donc d'injection, ont été réalisés.

2.1.1 Optimisation des conditions de détection MS

Tout d'abord, pour déterminer les transitions MRM (Multiple Reaction Monitoring) sur le système Acquity UPLC H-Class (Waters) couplé à un triple quadropôle (Acquity TQ Detector, Waters), chaque composé a été infusé en ESI (+) et (-) avec les différentes phases aqueuses (Tableau 25) en combinaison avec de l'ACN.

L'intérêt de ce travail était d'établir, pour chaque composé, l'ion précurseur sélectionné dans le premier quadropôle. Cela peut être l'ion moléculaire $[M \pm H]^{+/-}$ ou les ions formant des adduits avec le sodium $[M+Na]^+$, l'acétate d'ammonium $[M+NH_4]^+$ ou l'acide formique $[M+HCOO]^-$. Par la suite, l'énergie de collision nécessaire à fragmenter l'ion précurseur dans le quadropôle 2 est relevée. Puis, l'ion produit sélectionné dans le quadropôle 3 est déterminé. Par ailleurs, les 2 ions produits les plus intenses ont été choisis. Le plus intense sera nommé l'ion de quantification (Q) et le second ion, l'ion de qualification (q).

Les ions, les énergies de collisions et les transitions MRM sont présentées Annexe 3.

2.1.2 Rétention et forme des pics chromatographiques

2.1.2.1 Colonne C18 : influence de la nature de la phase aqueuse et du solvant

Une solution comportant les composés à 100 µg/L dans l'eau a été utilisée. Les conditions chromatographiques sont présentées dans le chapitre 2 section 4.2.1.1.1.

Pour la séparation des molécules, spécialement celles qui ont un caractère très hydrophile (avec des groupements acides ou basiques), la phase mobile utilisée, et particulièrement le pH, a une influence sur la forme des pics et la rétention des composés sur la colonne chromatographique. Le Tableau 37 montre le pH mesuré pour les différentes phases mobiles aqueuses testées.

Tableau 37 : pH mesuré des différentes phases mobiles aqueuses utilisées lors des développements chromatographiques

| Phase mobile | pH |
|---|-----|
| MilliQ | 5,6 |
| H ₂ O + 0,1 % HCOOH | 2,6 |
| H ₂ O + 10 mM d'acétate ammonium | 6,5 |

Globalement, 7 % des composés testés éluent dans le volume mort avec le support C18. Il s'agit de l'aminotriazole, le dicamba, l'acide monochloroacétique et la metformine.

20 % des composés de la liste modèle n'ont pas pu être évalués car ils n'ont pas été détectés par une analyse en LC-QqQ sur une colonne C18 (Figure 40).

La Figure 40 présente les temps de rétention obtenus pour tous les composés en fonction des différentes phases mobiles testées sur colonne C18. Elle montre que le solvant a également une influence sur le temps de rétention. Le MeOH, étant plus polaire que l'ACN ($\log K_{ow}$ respectivement de - 0.77 et - 0.34), possède un pouvoir éluant plus faible en mode inverse. Ainsi, tous les composés analysés sur la colonne C18, avec une phase mobile composée d'un mélange H₂O + 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH, sont élués plus tard, que si la phase mobile est composée d'un mélange H₂O + 10 mM d'acétate d'ammonium/ACN. A titre d'exemple, le temps de rétention (rT) du diflufénican est de 8,87 min avec une analyse utilisant de l'ACN tandis qu'en employant du MeOH, il élué à 9,96 min.

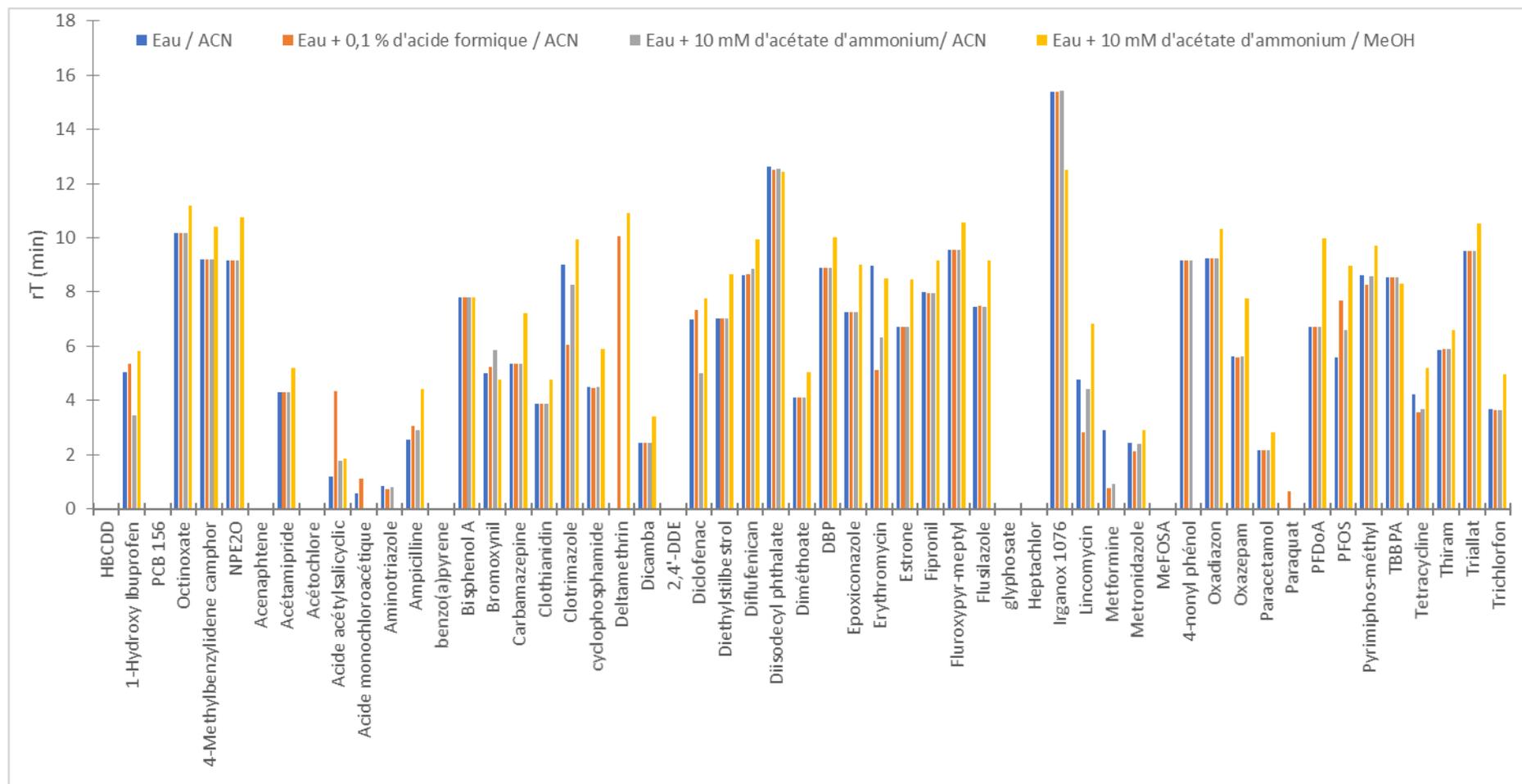


Figure 40 : Temps de rétention de chaque composé dans différentes conditions chromatographiques sur la colonne C18 avec un LC-QqQ en ESI (+) et ESI (-)

La Figure 41 illustre un cas de chromatogramme pour la lincomycine. Lorsque l'analyse est réalisée à pH neutre, il a un temps de rétention (rT) de 4,78 min ; contre 2,83 min en milieu acide et 4,4 min en milieu acétate d'ammonium.

Par rapport à un milieu neutre (pH = 6,5) ($\log D = -1,6$), ce composé est plus polaire ($\log D = 3,8$) en milieu acide (pH = 2,6). De ce fait, dans le dernier cas, il présente une rétention plus longue avec la phase stationnaire et un temps de rétention plus important.

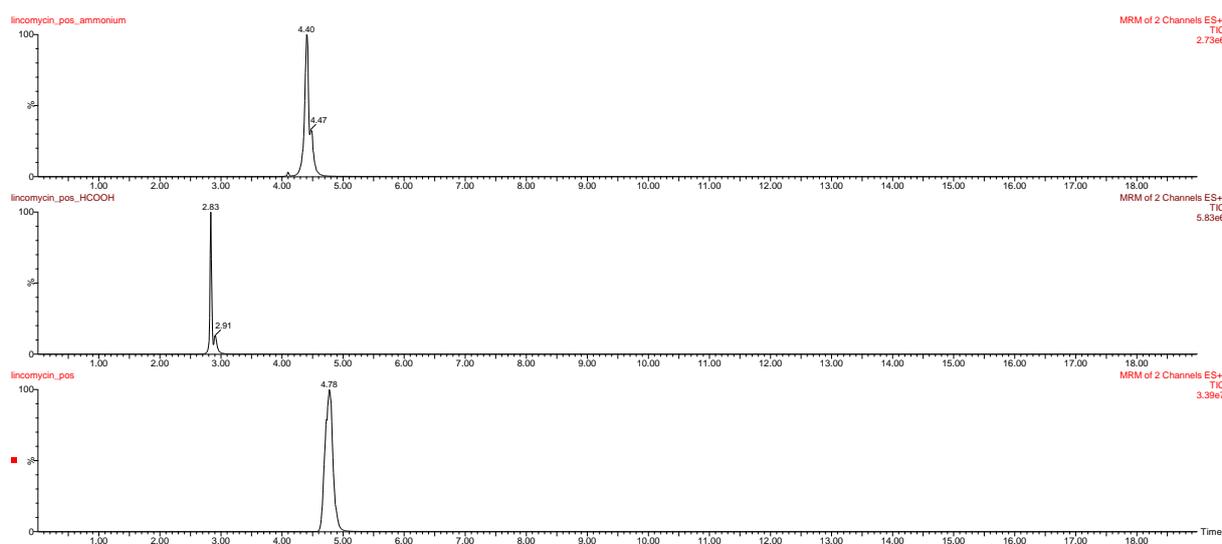


Figure 41 : Chromatogramme du lincomycine lorsque l'analyse a été réalisée à pH non ajusté (bas), acide (milieu) et avec 10 mM d'acétate d'ammonium (haut)

Le changement des rT en fonction du pH est constaté pour 16 % des composés. Mais il n'a pas un impact significatif car dans tous les cas, ils sont élués hors du volume mort ($k > 2$). Ce qui signifie que malgré le changement de pH, ces analytes sont suffisamment retenus par la colonne C18.

2.1.2.2 Colonne HILIC

Une solution comportant les composés à 100 $\mu\text{g/L}$ dans l'ACN a été utilisée. Les conditions chromatographiques sont explicitées dans le chapitre 2 section 4.2.1.1.2.

Pour favoriser la rétention des composés comportant des groupements très hydrophiles, la colonne Ascentis® Express HILIC a été utilisée. Elle a été choisie par rapport aux travaux antérieurs réalisés au laboratoire de l'INERIS par Marie MEYER (Meyer 2014). Elle sera nommée HILIC dans ce document. Les standards ont été dilués dans l'ACN.

65 % des composés analysés en LC n'ont pas été retenus par la colonne (ex : le fipronil ou l'estrone). Ces derniers possèdent des propriétés apolaires voire semi-polaires et éluent donc dans le volume mort.

En revanche, la Figure 42 montre que les composés portant des groupements très hydrophiles (aminotriazole et acide monochloro acétique) ont été retenus sur ce support. 30 % des molécules testées ont été retenus par la colonne HILIC. Parmi ces contaminants, 12 ont été en HILIC et en C18 (avec $k > 2$). De plus, les temps de rétention sont plus élevés lorsque ces derniers ont été analysés sur une colonne C18. Il s'agit du métronidazole, de l'acide acétylsalicylique, du clotrimazole, de la cyclophosphamide, de l'ampicilline, de l'érythromycine, du diclofénac, de la carbamazépine, de l'1-Hydroxy Ibuprofène, du paracétamol, de l'oxazépame et du lincomycine.

4 contaminants ont été uniquement retenus par la colonne HILIC : la metformine, le dicamba, l'aminotriazole et l'acide monochloroacétique. Cependant, cette colonne présente des limitations pour certains composés très polaires, comme le glyphosate ou le paraquat, car ils n'ont pas été retenus avec cette colonne.

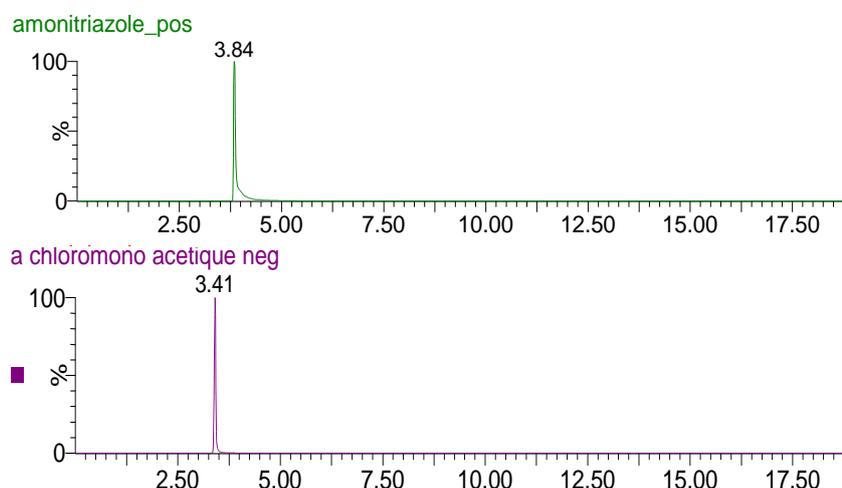


Figure 42 : Chromatogrammes de l'aminotriazole (haut) et de l'acide monochloroacétique (bas) sur la colonne Ascentis® Express HILIC sur le LC-QqQ en ESI (+) et ESI (-)

La colonne HILIC s'applique aux analytes hydrophiles qui sont difficiles à retenir en chromatographie en phase liquide, en phase inverse. Les valeurs du log D de l'analyte peuvent fournir une indication quant à l'adéquation de l'analyte pour la rétention en HILIC. De cette étude, il peut être considéré que si un composé a un log D ~ 0 [ex : metformin = -5,53 (à pH = 3 et 6,7); aminotriazole = -0,3 (à pH = 3 et 6,7); acide monochloroacétique =

0,48 à pH = 3 et -3,12 à pH = 6,7)], il est adapté pour de l'analyse par HILIC. Pour des valeurs de $\log D > 1$, une analyse sur une colonne C18 sera meilleure. Certains composés, tel que l'érythromycine ont un $\log D$ différent selon le pH ($\log D = -0,09$ à pH = 3 et $2,37$ à pH = 6,7). De ce fait, ce dernier peut très bien être analysé en HILIC et en C18. Le choix de la méthode devra donc se décider en fonction de l'application et de l'objectif de recherche.

Néanmoins, ces remarques ne sont pas toujours valables car certaines exceptions peuvent exister. A titre d'exemple, le $\log D$ du lincomycine est de $-3,45$ à pH = 3 et $-1,47$ à pH = 6,7. Malgré ces faibles valeurs, ce dernier est très bien retenu par la colonne C18.

2.1.2.3 Colonne mixte : Acclaim Trinity

Un mélange comportant les composés à 100 $\mu\text{g/L}$ a été utilisé. Les standards ont été dilués dans l'eau avec 20 mM d'acétate d'ammonium (pH = 3). Les conditions chromatographiques se trouvent dans le chapitre 2 section 4.2.1.1.3.

Certains composés comportant des groupements hydrophiles (aminotriazole ou acide monochloroacétique) n'étaient pas retenus par la colonne C18. Si certains l'ont été en HILIC, celle-ci ne permet pas la rétention de composés apolaires ou très polaires, comme le glyphosate ou le paraquat.

Une colonne mixte (en complément des 2 colonnes utilisées précédemment) a donc été évaluée. Elle présente l'avantage d'être composée de plusieurs phases (phases inverse, échanges d'anions et de cations) et possède donc, potentiellement, la capacité de pouvoir retenir les composés polaires et apolaires en une seule analyse.

Ce support a fait l'objet de plusieurs développements au laboratoire (Meyer 2014). Dans cette thèse, elle a été nommée : Trinity. La phase mobile pour les tests était constituée d'un mélange eau + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH 3) /ACN.

Grâce aux nombreuses phases qui constituent cette colonne, 65 % des contaminants modèles ont pu être retenus, comme le clotrimazole ou la carbamazépine (Figure 43).

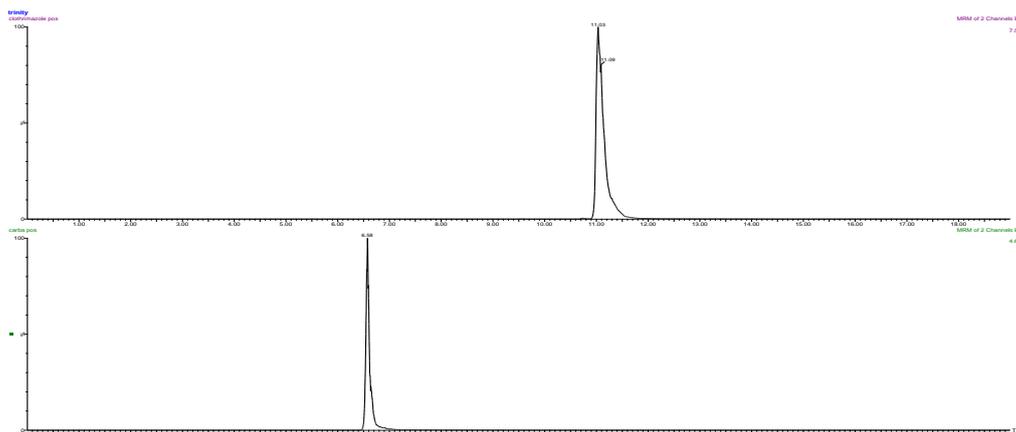


Figure 43 : Chromatogrammes du clotrimazole (haut) et de la carbamazépine (bas) obtenus sur une colonne Trinity

L'acide monochloracétique (Figure 44), l'aminotriazole (Figure 45) ou le glyphosate (Figure 46) n'ont pas été retenus sur la colonne C18. Cependant, grâce au support de la colonne Trinity, ces trois composés ont pu l'être.

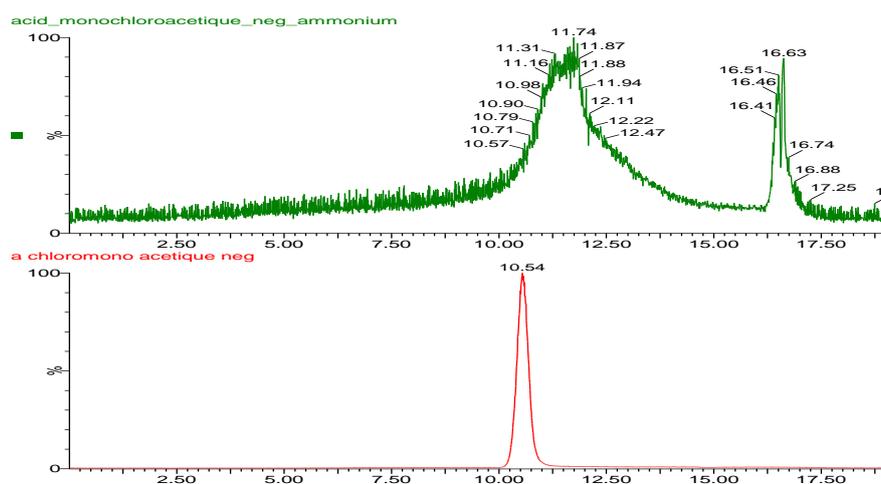


Figure 44 : Chromatogrammes de l'acide monochloroacétique avec une colonne C18 (haut) et une colonne Trinity (bas)

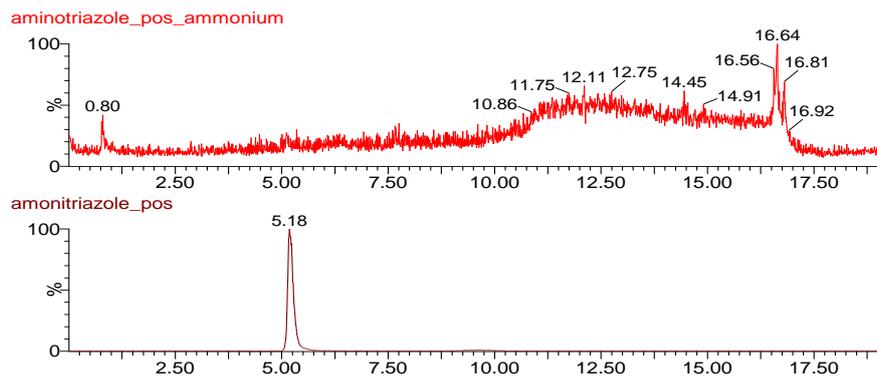


Figure 45 : Chromatogrammes de l'aminotriazole avec une colonne C18 (haut) et une colonne Trinity (bas)

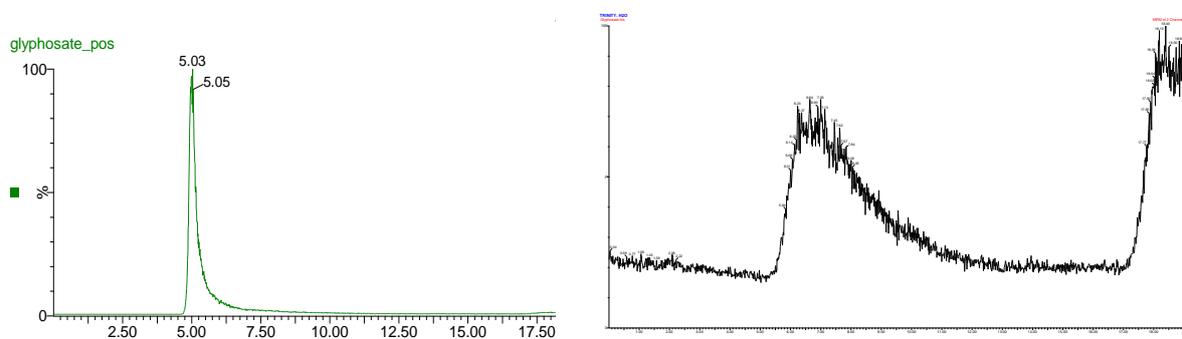


Figure 46 : Chromatogrammes du glyphosate retenu avec une colonne Trinity (gauche) et C18 (droite)

Les résultats ont montré que la colonne Trinity n'est toutefois pas adaptée à la rétention de tous les composés étudiés (Figure 53). Parmi les molécules couramment analysées en LC-QqQ C18 (Figure 40), 20 % des composés, tels que le PFOS ou le PFD_oA, n'ont pas été retenus avec cette colonne chromatographique. Elle présente donc des limites pour les analyses multirésidus visant à retenir des composés possédant une large gamme de propriétés physico-chimiques.

Par rapport à la colonne C18, la colonne Trinity permet également d'obtenir certains pics plus symétriques pour des composés comme l'acide acétylsalicylique ou la clothianidine.

Les Figure 47 et Figure 48 montrent ainsi que des doubles pics sont observés pour ces molécules lors d'une séparation sur une colonne C18 ; tandis que sur la colonne Trinity, ils éluent sous la forme d'un unique pic bien retenu.

A pH = 3 (analyse avec la colonne trinity) , la clothianidine est sous une seule et unique forme. Son pic est ainsi gaussien. A pH = 6,5 (analyse avec la colonne C18), deux formes de la clothianidine existe. Ce composé élue alors sous la forme d'un double pic (Figure 47).

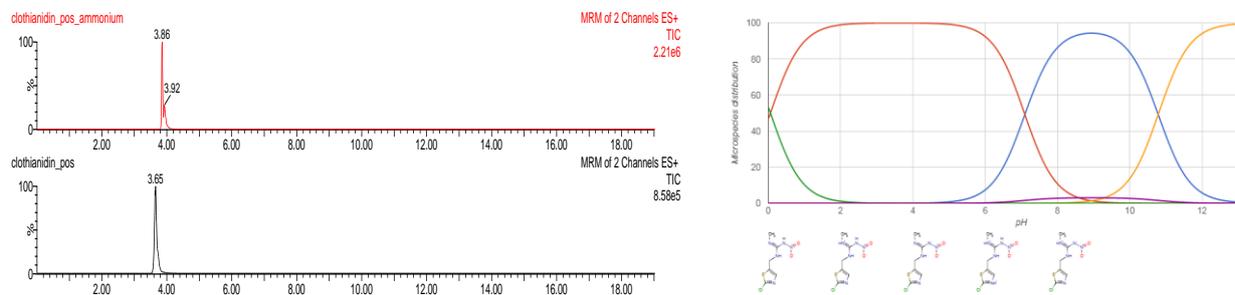


Figure 47 : Chromatogramme (gauche) du clothianidine avec une colonne C18 (haut) et une colonne Trinity (bas) et sa répartition en fonction du pH

L'acide acétylsalicylique est un composé instable. Lors de son infusion dans le TQD, il se dégrade directement dans la source d'ionisation sans avoir besoin d'apporter une énergie de collision. Son principal fragment correspond à l'acide salicylique. Les deux pics observés sont donc ceux de l'acide salicylique et de l'acétylsalicylique.

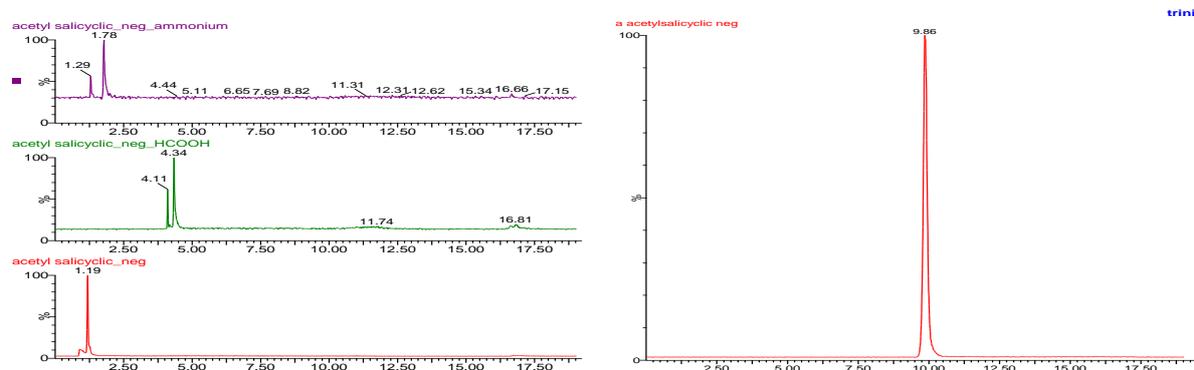


Figure 48 : Chromatogramme de l'acide acétylsalicylique avec la colonne C18 en ESI (-) obtenu avec l'acétate d'ammonium (haut), en milieu acide (milieu) et sans ajout (bas) à gauche. Chromatogramme de l'acide acétylsalicylique sur la colonne trinity en ESI (-) à droite.

La solution étalon a été analysée sur la colonne Acclaim Trinity P1 en utilisant également le méthanol comme solvant organique (mélange H₂O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH=3) /MeOH). Le solvant d'injection des standards a été le même que celui utilisé précédemment lorsque l'ACN a été étudié [eau avec 20 mM d'acétate d'ammonium (ph=3)].

Avec du MeOH, les résultats sur la colonne mode mixte Acclaim Trinity P1 ne sont pas aussi satisfaisants qu'avec de l'ACN. Tous les composés présentent des pics très larges (Figure 49).

Par conséquent, comme pour les colonnes HILIC, l'utilisation de MeOH ne semble pas adaptée pour cette colonne.

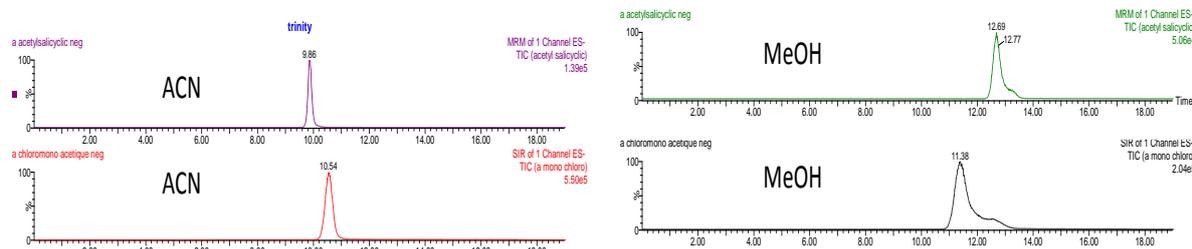


Figure 49 : Influence de l'utilisation comme solvant du MeOH ou de l'ACN avec la colonne Trinity sur l'acide acétylsalicylique (haut) et sur l'acide monochloroacétique (bas)

2.1.3 Influence des phases mobiles et de la nature du solvant sur la détection des composés étudiés

L'influence sur la détection d'une large gamme de composés a été évaluée sur différentes colonnes, dans plusieurs conditions de phases mobiles décrites précédemment en mode MS (QqQ) positif et négatif (chapitre 2 section 4.2.1.1). Les intensités des hauteurs de pic obtenues lors de ces essais sont présentées en détail (Annexe 4). Les résultats sont synthétisés dans les parties suivantes.

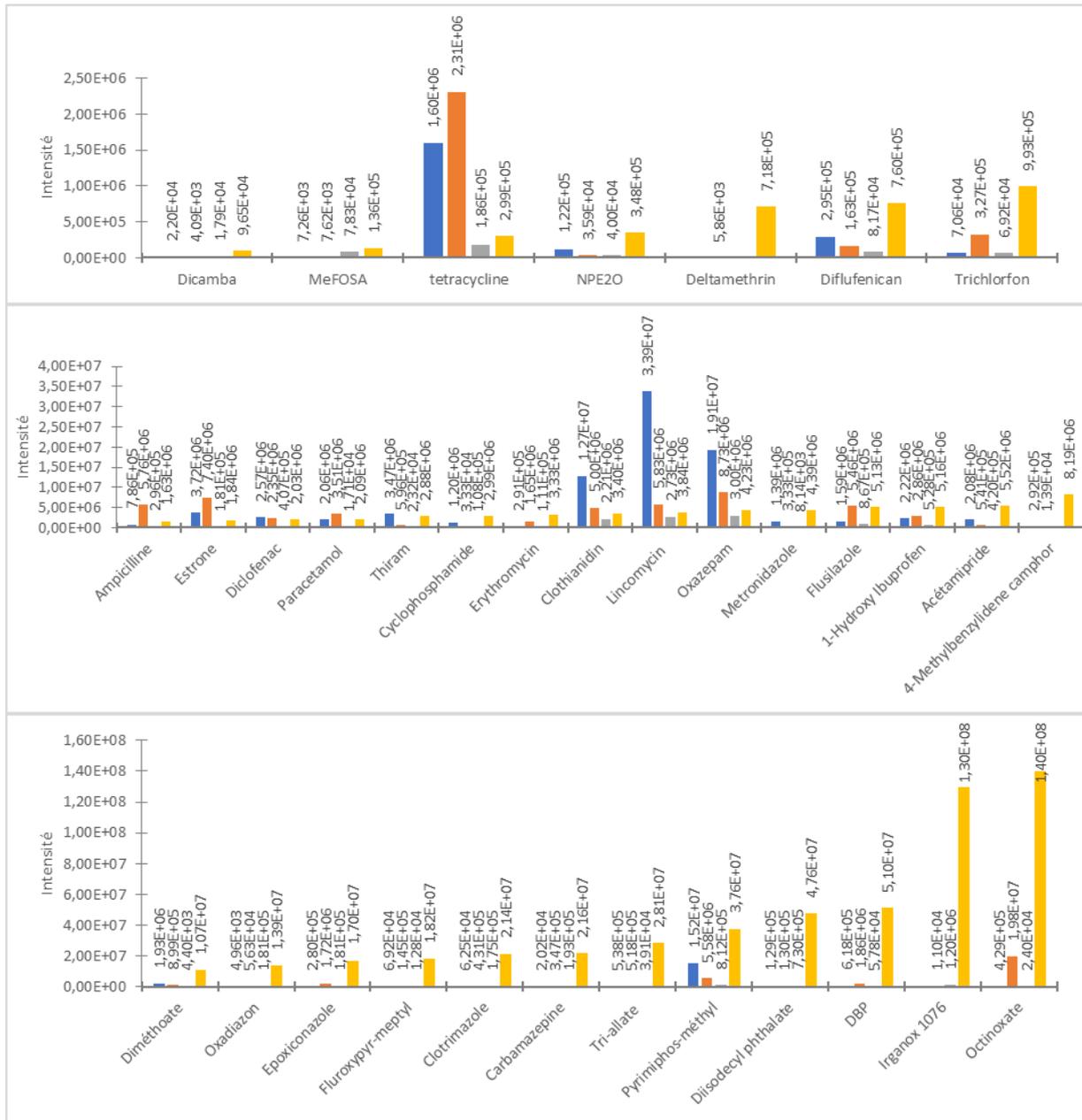
2.1.3.1 Colonne C18

Les Figure 50 et Figure 51 représentent les intensités de quelques composés analysés en mode positif (33) et négatif (6).

A l'exception de composés, tels que le TBBPA ou la lincomycine, ces figures révèlent que 70 % des molécules analysées en ESI (+) et 57 % des contaminants analysés en ESI (-) ont une intensité de signal plus importante lorsqu'une phase mobile, composée d'un mélange H₂O + 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH, a été employée.

Les analyses multirésidus développées dans la littérature ont montré que pour ce type d'analyse, notamment les pesticides et les produits pharmaceutiques, le MeOH (Nödler et al. 2010) était le solvant choisi. L'acidification du MeOH a également beaucoup été employée pour les analyses multirésidus de ce type de composés (Robles-Molina et al. 2014).

A titre d'exemple, le PFOS présente une intensité de signal plus élevée : environ d'un facteur 10 par rapport aux autres phases mobiles testées. Clara et al. (2008) et Clara et al. (2009) ont également utilisé du MeOH pour la détection de ces contaminants.



H₂O/ACN
 H₂O + 10 mM d'acétate d'ammonium/ACN
 H₂O + 0,1% HCOOH/ACN
 H₂O + 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH

Figure 50 : Présentation de quelques intensités de hauteur de signal avec différentes phases mobiles et solvants en mode positif sur la colonne C18

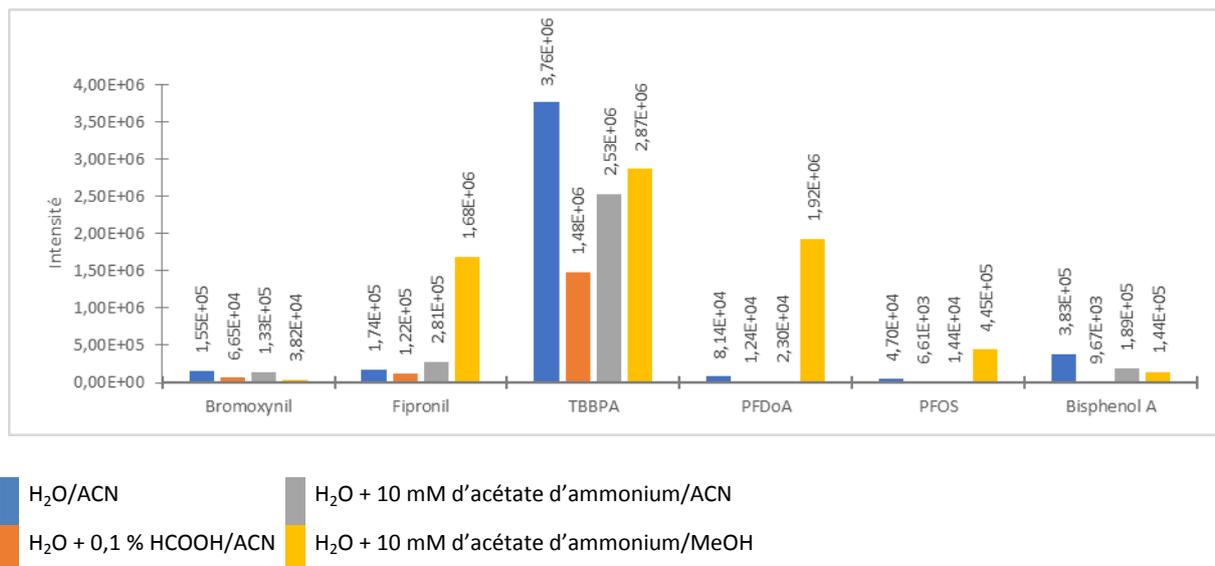


Figure 51 : Présentation de quelques intensités de signal avec différentes phases mobiles et solvants en mode négatif sur la colonne C18

De plus, l'utilisation de l'acétate d'ammonium permet pour certains composés, tels que les pyréthriinoïdes et les alkylphénols éthoxylés, de former des adduits NH_4^+ qui améliorent la sensibilité de leurs analyses (Singh et al. 2016). Pour les autres composés, la formation d'adduit ammonium n'a pas été observée.

2.1.3.2 Colonne HILIC

Les phases aqueuses couramment employées en HILIC sont des phases en acétate d'ammonium (Kovalova et al. 2009) ou formate d'ammonium (Tran et al. 2002). D'après les données bibliographiques, seul l'ACN peut être utilisé comme solvant organique (Kovalova et al. 2009). Les conditions chromatographiques ont été reprises des travaux de la thèse de Marie MEYER effectués au laboratoire de l'INERIS. (Meyer 2014).

2.1.3.3 Colonne Trinity

Les conditions d'analyse ont été établies en fonction des résultats obtenus dans les travaux développés au laboratoire (Meyer 2014). Cette colonne a été employée à pH acide pour favoriser la rétention des composés cationiques.

Dans le cadre de ces travaux, suite aux résultats satisfaisants obtenus en C18 avec le solvant MeOH, ce dernier a été testé pour les analyses réalisées sur une colonne Trinity. Les résultats de la Figure 52 montrent que pour la plupart des composés, l'intensité de la

hauteur des pics est beaucoup plus forte avec une phase mobile comprenant un solvant organique d'ACN.

En effet, les pics du trichlorfon ou du lincomycine sont plus intenses dans ces conditions. De plus, lorsque le MeOH est utilisé comme solvant organique, des composés tels que le glyphosate ou le fluoroxy-pyr-meptyl n'ont pas été détectés. Ainsi, comme il a été constaté au laboratoire, à travers une thèse (Meyer-Monath et al. 2015), une phase mobile composée d'un mélange H₂O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH ajusté à 3) / ACN est préférable pour détecter l'ensemble des composés avec une bonne intensité de signal.

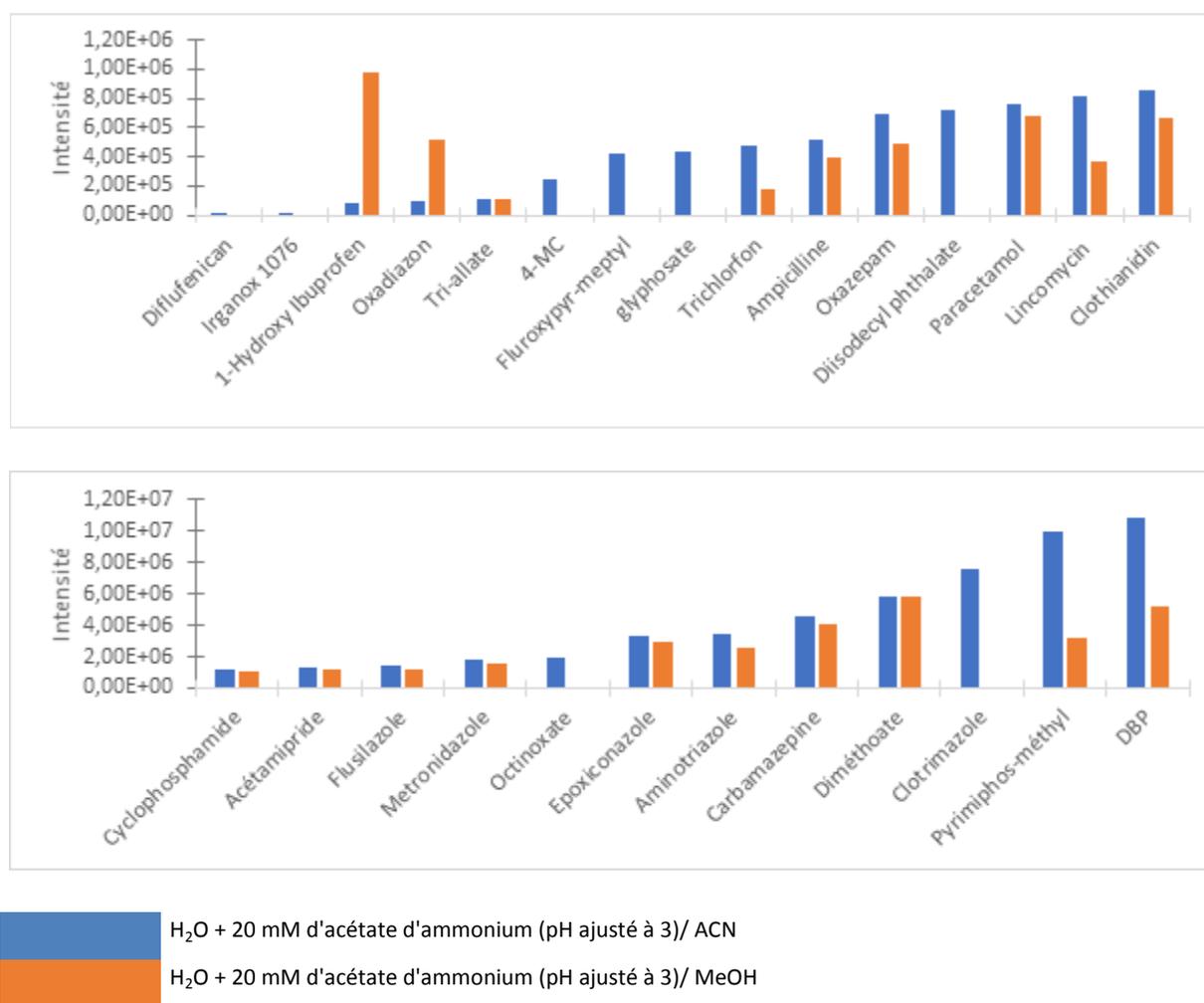


Figure 52 : Présentation de quelques intensités de signal avec différents solvants organiques en mode ESI positif sur la colonne Trinity

2.1.4 Bilan méthodologique de l'analyse en LC-QqQ

Tous les composés ont été évalués en LC-QqQ sur les trois colonnes (C18, HILIC et Trinity) en ESI (-) et (+) avec ou sans modification du pH de la phase aqueuse. L'ACN et le MeOH ont été

évalués comme solvants organiques. Il a été démontré que la nature du solvant influence l'ionisation et la sensibilité en détection QqQ par ESI (+) et (-). L'utilisation du MeOH offre de meilleures réponses en LC-QqQ C18. Il a été conservée pour les analyses sur ce type de colonne.

La Figure 53 récapitule les différents temps de rétention obtenus avec la colonne C18 (plusieurs phases mobiles ont été testées), HILIC et Trinity. Le support C18 permet de retenir 40/55 composés et est donc très bien adapté pour les analyses multirésidus de composés organiques. En revanche, les composés très polaires, tels que l'aminotriazole ou la metformine, ne sont pas retenus par la C18.

Pour tenter de retenir les autres composés, une colonne HILIC a été évaluée. Cette dernière a permis de retenir 16 % des composés (essentiellement hydrophiles), tel que l'aminotriazole. Mais, à la différence de la colonne C18, elle ne permet pas la rétention de la majorité des composés semi-polaires à apolaires, ainsi que de certaines substances très polaires comme le glyphosate (dans les conditions testées). Il est donc recommandé d'utiliser cette colonne pour des besoins et des applications spécifiques, en complément de la colonne C18. Les conditions d'analyse utilisées sont du H₂O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH ajusté à 3 par l'acide acétique).

La colonne Trinity détient des propriétés intermédiaires entre ces deux types de colonne. Ainsi, elle a permis de retenir de nombreux composés apolaires. Toutefois, si ces composés sont généralement retenus, la forme des pics est moins souvent gaussienne que celle obtenue en C18 (à l'exception de quelques composés). Comme la HILIC, elle est aussi adaptée à la rétention de composés polaires, tels que l'acide monochloroacétique ou l'acide acétylsalicylique. Par rapport aux colonnes C18 et HILIC, la colonne Trinity n'est donc utilisable ici que pour l'analyse du glyphosate et présente des pics moins symétriques pour certains composés. La méthode développée sur la colonne Trinity n'a donc pas été retenue pour la suite des travaux et le glyphosate a été retiré de la liste.

La LC-MS n'est pas adaptée pour la mesure de quelques composés apolaires ne présentant pas d'ionisation spectrométrique. Ainsi, le PCB 156, l'acénaphène, le benzo(a)pyrène, le 2,4'-DDE, l'heptachlore et l'acétochlore, n'ont pas été détectés en LC-QqQ. Ces composés doivent être analysés par une technique complémentaire, la GC/MS.

Il est important de rappeler que si des différences de sélectivités sont observées entre les colonnes C18, elles le sont beaucoup plus pour les colonnes HILIC. Les résultats ne peuvent alors pas être généralisés à toutes les colonnes HILIC (Lestremau 2014). Des colonnes HILIC pourraient permettre l'analyse de composés polaires non retenus ici, comme le glyphosate. Ce dernier a fait l'objet d'une étude employant la colonne Acclaim® WAX-1 (Hao et al. 2011). La phase stationnaire est donc l'un des paramètres les plus importants influençant la sélectivité des méthodes en HILIC. Les phases stationnaires couramment employées sont basées sur des supports de silice classique ou des gels de silice modifiés à l'aide de groupes fonctionnels polaires. Des phases stationnaires à base de polymères ou zwitterioniques peuvent être employées. Cette dernière est composée d'un groupement sulfoalkylbétaine [groupement acide (acide sulfonique) et basique (ammonium quaternaire) fort]. Ces groupements sont séparés d'une courte chaîne alkyle. Grâce au partage hydrophile et les interactions électrostatiques, les composés chargés négativement et positivement sont retenus (Buszewski and Noga 2011). Il existe aussi d'autres phases neutres comportant des groupements amides ou diol.

Cette évaluation des colonnes et des phases mobiles a permis de montrer que pour des analyses multirésidus - si l'objectif est de séparer et d'analyser un maximum de composés aux propriétés diverses et variées - plusieurs supports de rétention complémentaires doivent être employés. Malgré l'utilisation de trois colonnes (C18, HILIC et Trinity), les méthodes chromatographiques ont prouvé certaines limites, car tous les composés de liste n'ont pas été détectés ou retenus.

Certains composés polaires, comme les herbicides ammoniums quaternaires (communément désignés sous le nom de « quats ») ou le PFAS MeFOSA (non retenus avec les méthodes employées ici), nécessitent des méthodes spécifiques utilisant des colonnes ou des solvants adaptés. A titre d'exemple, certains travaux, utilisant un spectromètre de masse comme détecteur, mentionnaient l'emploi d'une colonne ZIC-pHILIC (SeQuant) utilisant une phase mobile composée d'un mélange (H₂O + 50 mM de formate d'ammonium) / (ACN/H₂O 10/90 (v/v)) (Danezis et al. 2016). Ces molécules ont par conséquent été retirées de la liste de substances suivies ici. Il en est de même pour l'HBCDD. Pour séparer les isomères de ce composé, Lestremau & Chatellier (2014) évoquaient l'emploi d'une phase mobile utilisant trois mélanges MeOH/ACN + 0,1 % d'acide acétique/H₂O +10 mM d'acétate d'ammonium.

Ces conditions d'analyse ne sont pas adaptées aux méthodes développées précédemment, dont l'objectif final est d'obtenir une ou des méthodes multirésidus favorisant la détection d'une large gamme de polluants.

Malgré l'utilisation de méthodes complémentaires permettant de couvrir un large espace de l'univers des substances polluantes, il faut être conscient que des risques subsistent, de ne pas pouvoir détecter efficacement certains types de polluants aux caractéristiques spécifiques (très polaires, larges poids moléculaires mais non ionisables...).

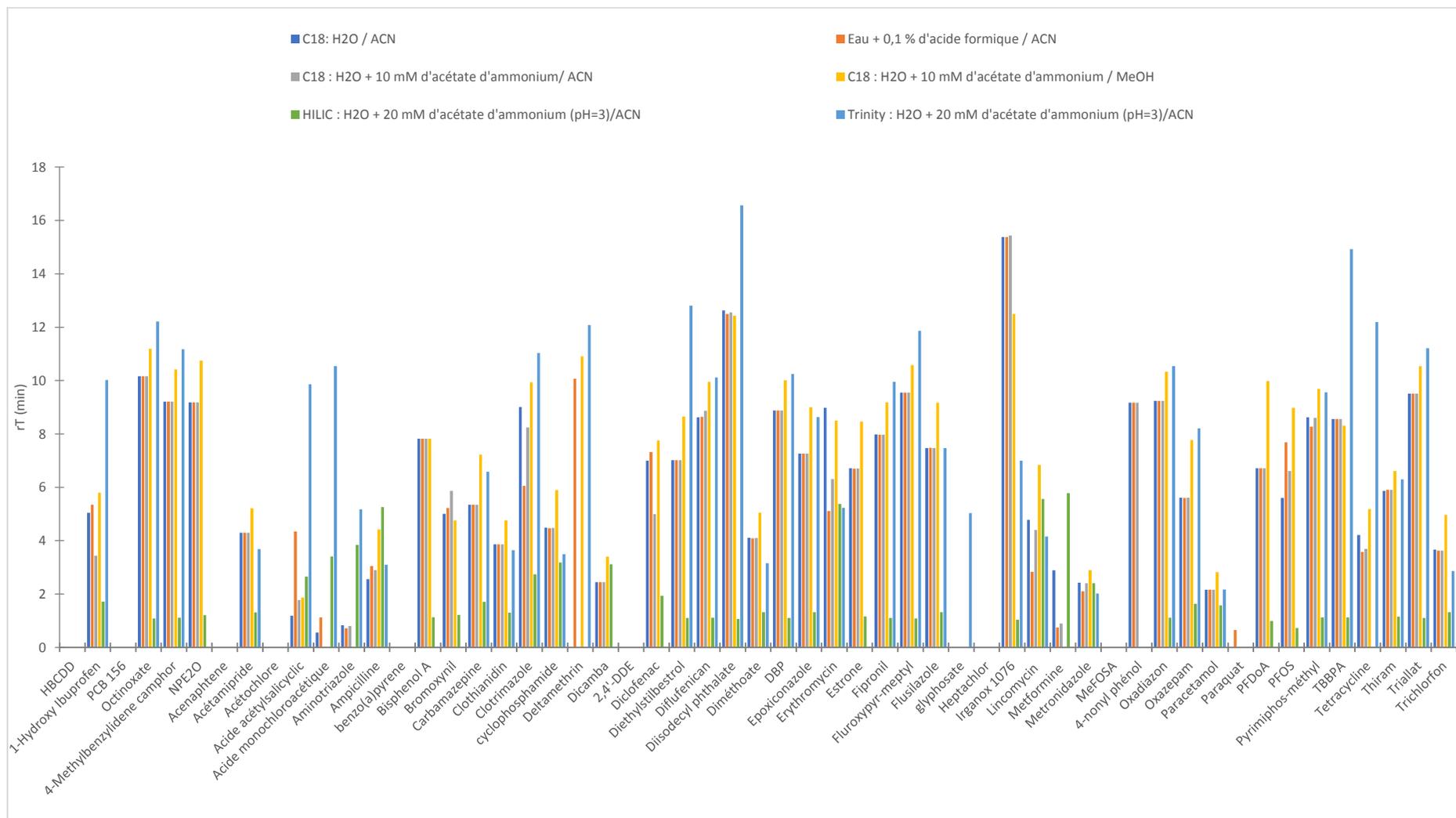


Figure 53 : Bilan des temps de rétention (min) obtenus avec les différentes colonnes et phases mobiles. Les 4 premières barres représentent les rTs des composés analysés sur une colonne C18 avec diverses phases mobiles.

3 Conclusions méthodologiques en LC-QqQ et GC-MS

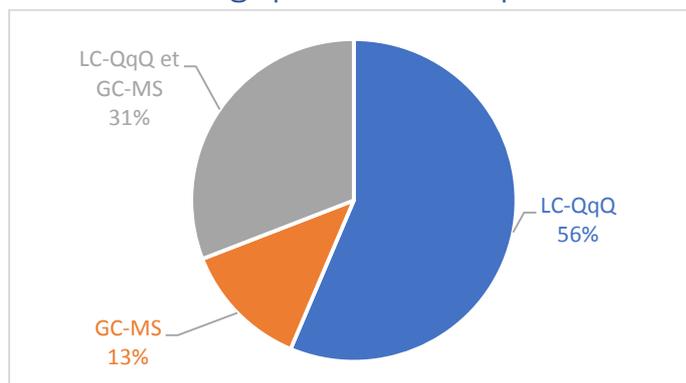


Figure 54 : Représentation des composés analysés en GC-MS et/ou LC-QqQ

Dans l'optique d'un screening, une seule méthode chromatographique ne permet pas d'obtenir des caractéristiques de rétention et/ou de formes de pics et/ou de détection satisfaisantes pour une très large gamme de composés. Ainsi, pour la LC, des colonnes et techniques aux propriétés complémentaires doivent être utilisées (les colonnes C18 et HILIC). Pour limiter le nombre et le temps d'analyses, certains choix et compromis (notamment au niveau des intensités) ont été effectués en privilégiant des analyses en C18. La GC-MS a été également employée pour les composés ne pouvant pas s'ioniser et être détectés en LC-QqQ. Ainsi cinq méthodes d'analyse ont été retenues :

- une méthode en ESI (-) et (+) avec une colonne C18 avec une phase mobile composée d'un mélange H₂O (10 mM d'acétate d'ammonium) / MeOH
- une méthode en ESI (-) et (+) avec une colonne HILIC avec une phase mobile composée d'un mélange H₂O (20 mM d'acétate d'ammonium¹⁴) / ACN
- une méthode en GC-MS

Le Tableau 38 renferme les méthodes choisies pour les composés modèles.

¹⁴ pH ajusté à 3 avec de l'acide acétique

Tableau 38 : Synthèse des méthodes chromatographiques pour l'analyse des composés modèles de la liste

| Famille | Composés | Méthode | Mode d'ionisation | Colonne | Phase mobile |
|--------------------------|--|---------|-------------------|---|--|
| Produits pharmaceutiques | 1-Hydroxy Ibuprofène | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| PCB | 2,3,3',4,4',5-H6CB (PCB 156) | GC-MS | E.I | Rxi [®] 5 sil MS (60 m; 0,25 mm ID; 0,25 dt), <i>Restek</i> . | He |
| Filtre UV | 2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate (octinoxate) | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | 4-Methylbenzylidene camphor (4-MC) | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Surfactant | 4-n-nonylphenol diethoxylate (NPE2O) | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Surfactant | 4-nonylphenol | GC-MS | E.I | Rxi [®] 5 sil MS (60 m; 0,25 mm ID; 0,25 dt), <i>Restek</i> . | He |
| HAP | Acénaphène | GC-MS | E.I | Rxi [®] 5 sil MS (60 m; 0,25 mm ID; 0,25 dt), <i>Restek</i> . | He |
| Pesticide | Acétamipride | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Acétochlore | GC-MS | E.I | Rxi [®] 5 sil MS (60 m; 0,25 mm ID; 0,25 dt), <i>Restek</i> . | He |
| Produits pharmaceutiques | Acide acétylsalicylique | LC-QqQ | ESI - | Ascentis [®] Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), <i>Supelco</i> | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH = 3) / ACN |
| Produit de désinfection | Acide monochloroacétique | LC-QqQ | ESI - | Ascentis [®] Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), <i>Supelco</i> | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH = 3) / ACN |
| Pesticide | Aminotriazole | LC-QqQ | ESI + | Ascentis [®] Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), <i>Supelco</i> | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH = 3) / ACN |
| Produits pharmaceutiques | Ampicilline | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| HAP | Benzo(a)pyrène | GC-MS | E.I | Rxi [®] 5 sil MS (60 m; 0,25 mm ID; 0,25 dt), <i>Restek</i> . | He |
| Plastifiant | Bisphénol A | LC-QqQ | ESI - | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Bromoxynil | LC-QqQ | ESI - | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Produits pharmaceutiques | Carbamazépine | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |

| Famille | Composés | Méthode | Mode d'ionisation | Colonne | Phase mobile |
|--------------------------|---|---------|-------------------|---|--|
| Pesticide | Clothianidin | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Produits pharmaceutiques | Clotrimazole | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Produits pharmaceutiques | Cyclophosphamide | LC-QqQ | ESI + | Ascentis® Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), <i>Supelco</i> | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH = 3) / ACN |
| Plastifiant | Phtalate de dibutyle (DBP) | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Deltaméthrine | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Dicamba | LC-QqQ | ESI - | Ascentis® Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), <i>Supelco</i> | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH = 3) / ACN |
| Pesticide | Dichlorodiphényldichloroethylene-o,p' (DDE) | GC-MS | E.I | Rxi® 5 sil MS (60 m; 0,25 mm ID; 0,25 dt), <i>Restek</i> . | He |
| Produits pharmaceutiques | Diclofénac | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Produits pharmaceutiques | Diethylstilbestrol | LC-QqQ | ESI - | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Produits pharmaceutiques | Diflufénican | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Plastifiant | Diisodecyl phthalate | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Diméthoate | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Epoxiconazole | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Produits pharmaceutiques | Erythromycine | LC-QqQ | ESI + | Ascentis® Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), <i>Supelco</i> | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH = 3) / ACN |
| Produits pharmaceutiques | Estrone | LC-QqQ | ESI - | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Fipronil | LC-QqQ | ESI - | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Fluroxypyr-meptyl | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Flusilazole | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Glyphosate | | | Retiré de la liste | |
| Retardateur de flamme | HBCDD | | | Retiré de la liste | |
| Pesticide | Heptachlor | GC-MS | E.I | Rxi® 5 sil MS (60 m; 0,25 mm ID; 0,25 dt), <i>Rextek</i> . | He |
| Plastifiant | Irganox 1076 | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |

| Famille | Composés | Méthode | Mode d'ionisation | Colonne | Phase mobile |
|--------------------------|--------------------------------|---------|-------------------|---|--|
| Produits pharmaceutiques | Lincomycine | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Produits pharmaceutiques | Metformine | LC-QqQ | ESI + | Ascentis® Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), <i>Supelco</i> | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH = 3) / ACN |
| Produits pharmaceutiques | Métronidazole | LC-QqQ | ESI + | Ascentis® Express HILIC (15 cm x 2,1mm ; 2,7µm), <i>Supelco</i> | H ₂ O + 20 mM d'acétate d'ammonium (pH = 3) / ACN |
| Alkyle perfluoré | N-MEFOSA | | | Retiré de la liste | |
| Pesticide | Oxadiazon | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Produits pharmaceutiques | Oxazepam | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Produits pharmaceutiques | Paracétamol | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Paraquat | | | Retiré de la liste | |
| Alkyle perfluoré | PFD _o A | LC-QqQ | ESI - | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Alkyle perfluoré | PFOS | LC-QqQ | ESI - | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Pirimiphos-méthyl | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Retardateur de flammée | Tetrabromo bisphenol A (TBBPA) | LC-QqQ | ESI - | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Produits pharmaceutiques | Tétracycline | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Thiram | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Tri-allate | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |
| Pesticide | Trichlorfon | LC-QqQ | ESI + | Kinetex C18 (100*2,1mm ; 2,6 µm), <i>Phenomenex</i> | H ₂ O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH |

Partie 2 : Développements en SPE hors ligne

Les méthodes d'analyse des molécules organiques étant déterminées, ces dernières ont été utilisées pour détecter les composés modèles lors des méthodes d'extraction. Ainsi, selon le protocole de reconcentration avant l'analyse par chromatographie présenté Figure 55, des rendements d'extraction ont été déterminés afin d'évaluer l'efficacité d'extraction des contaminants sur les différentes cartouches étudiées. Le calcul des rendements est détaillé en 5.1 du chapitre 2. Les optimisations en SPE hors ligne ont été réalisées en diluant et en extrayant une solution à une concentration de 1 µg/L dans l'eau milliQ.

En injection directe, certains composés, tels que l'irganox 1076 et le DBP, sont omniprésents même dans les blancs d'eau milliQ. Pour les procédures de SPE hors ligne, ces derniers n'ont pas été pris en compte.

Des tests préliminaires ont tout d'abord été menés :

- ✓ influence du solvant d'injection et test de pertes de composés par reconcentration avant injection. Comme les différentes méthodes chromatographiques nécessitent des solvants d'injection différents, un protocole analytique a dû être mis au point. Ce protocole incluant notamment une étape d'évaporation de solvant, il a fallu s'assurer que lors de cette étape, les composés ne se soient pas volatilisés (spécialement les molécules analysées en GC-MS). De plus, des tests de solubilité, notamment pour les composés polaires avec 100 % d'ACN, ont été effectués.
- ✓ influence de la quantité de phase SPE (sur cartouche Oasis HLB).
- ✓ influence du volume d'échantillon d'eau (sur cartouche Oasis HLB).

La comparaison et l'efficacité d'extraction de plusieurs cartouches SPE ont ensuite été étudiées (publication n°1). Il s'agit de cartouches commerciales (Oasis MAX, WAX, WCX, MCX) ou de cartouche multiphasées [cartouche en série : Oasis HLB + MCX ; cartouche multicouche Oasis HLB + mélange (Strata-X-AW/Strata-X-CW/Isolute ENV +)].

Enfin, l'influence de l'ajout d'un agent de chélation a été évaluée sur les cartouches Oasis HLB et multicouche et les niveaux de sensibilité ont également été déterminés.

1 Etudes préliminaires

1.1 Influence du solvant d'injection lors des étapes de SPE hors ligne

Le protocole de reconcentration et d'évaporation après l'extraction par SPE (Figure 55) montre que les composés ont été repris dans des solvants d'injection compatibles pour les analyses en GC-MS, LC-QqQ HILIC et C18. Une partie de ces travaux a eu pour ambition de définir le solvant d'injection adéquat avant l'analyse par chromatographie. Les tests réalisés et les résultats obtenus pour aboutir à ce protocole sont dévoilés dans les paragraphes suivants.

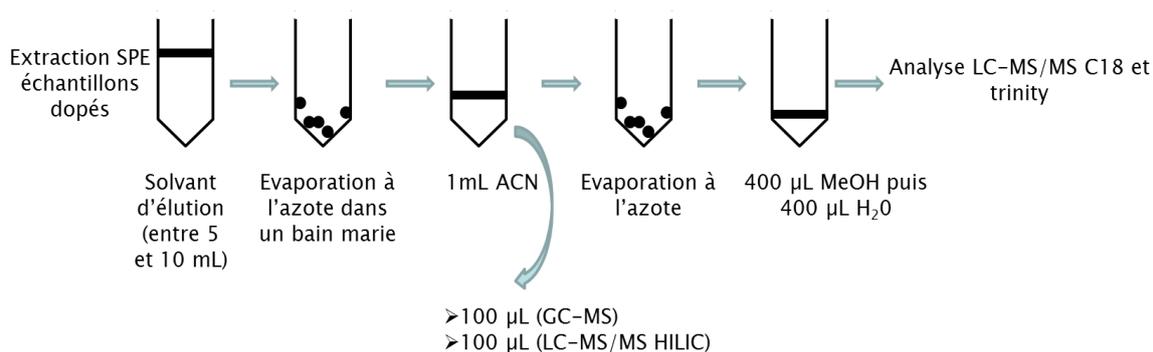


Figure 55 : Protocole de reconcentration et d'évaporation pour les analyses en LC-MS/MS et GC-MS

1.1.1 Composés analysés en LC-QqQ C18

Dans une optique d'analyse d'une large gamme de composés, le solvant de l'extrait doit pouvoir être compatible avec les conditions chromatographiques, mais également être capable de solubiliser des composés avec de vastes propriétés physico-chimiques (et d'éviter des pertes par adsorption par exemple). Les conditions de début de gradient [démarrage du gradient chromatographique d'analyse par C18 avec un mélange composé d'eau + 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH (95/5)] ne sont potentiellement pas compatibles avec la solubilisation de composés très apolaires (Meyer 2014). Ainsi, une proportion de 50% de solvant a été retenue pour cette étude (Meyer 2014). Afin de vérifier la compatibilité de ces conditions d'analyse chromatographique avec les composés modèles, une étude a été effectuée. La nature du solvant de reprise (ACN ou MeOH) a également été évaluée.

Les Figure 56 et Figure 57 montrent que lors de cette étape, la composition H₂O/MeOH (50/50) est un meilleur choix par rapport à H₂O/ACN (50/50), comme mélange de reprise SPE. Pour le bromoxynil, le trichlorfon, l'hydroxy ibuprofène, le paracétamol ou l'ampicilline, la symétrie des pics est nettement meilleure. Ceci peut être expliqué par un effet nommé le « visquous fingering ». Le MeOH étant plus visqueux que l'ACN, la solution tend à se diluer

plus facilement avec la phase mobile principalement constituée d'eau en début de gradient. Ce phénomène impacte surtout les composés éluant en début de chromatographie.

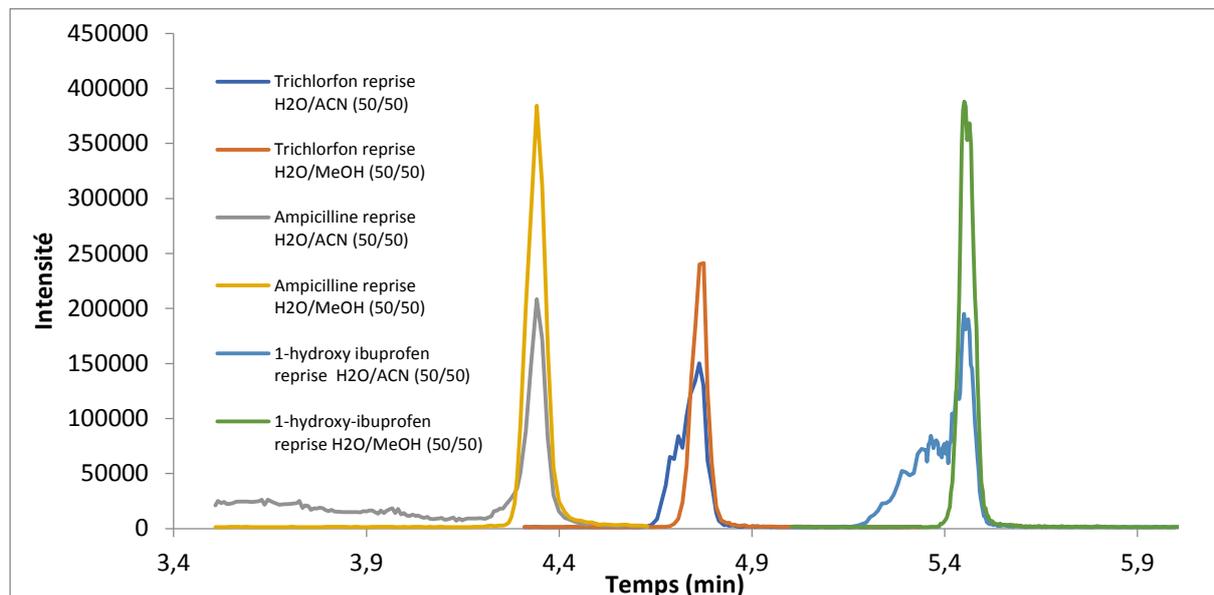


Figure 56 : Influence de la nature du solvant d'injection (H₂O/MeOH et H₂O/ACN) pour l'analyse de l'ampicilline (rT= 4,3), l'hydroxy ibuprofène (rT= 4,9) et le trichlorfon (rT=5,5)

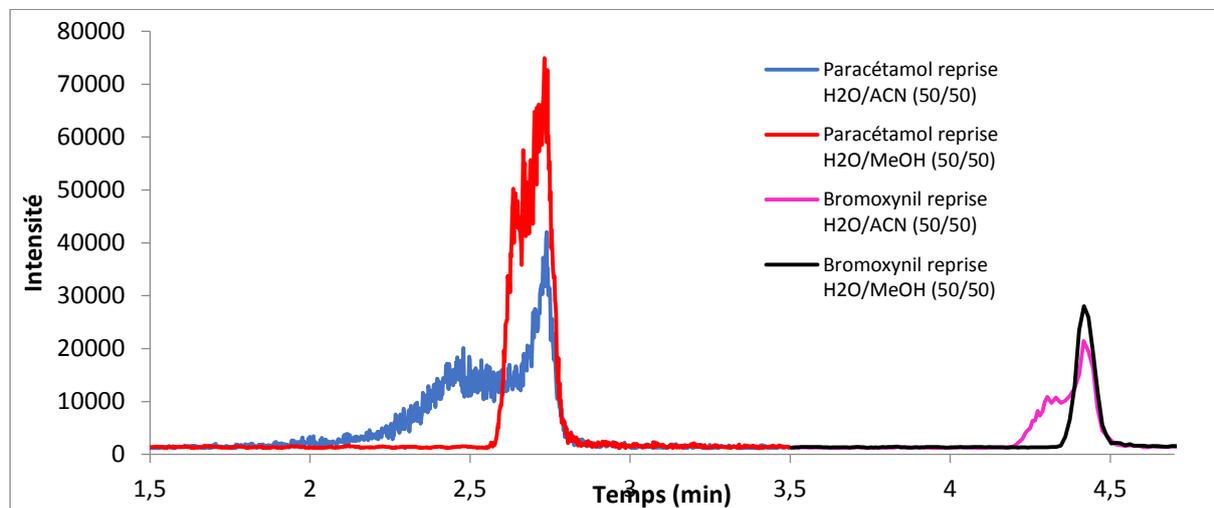


Figure 57 : Influence de la nature du solvant d'injection (H₂O/MeOH et H₂O/ACN) pour l'analyse du paracétamol (rT=2,7) et du bromoxynil (rT=4,4)

1.1.2 Contaminants analysés en LC-QqQ HILIC

Certaines limites ont été relevées pour quelques composés initialement analysés en C18, tels que le paracétamol (Figure 57) et le métrondazole. Dans les conditions de reprise H₂O/MeOH (50/50), ces deux derniers présentent des pics asymétriques tandis que dans un mélange (95/5), leurs pics sont gaussiens (Figure 58).

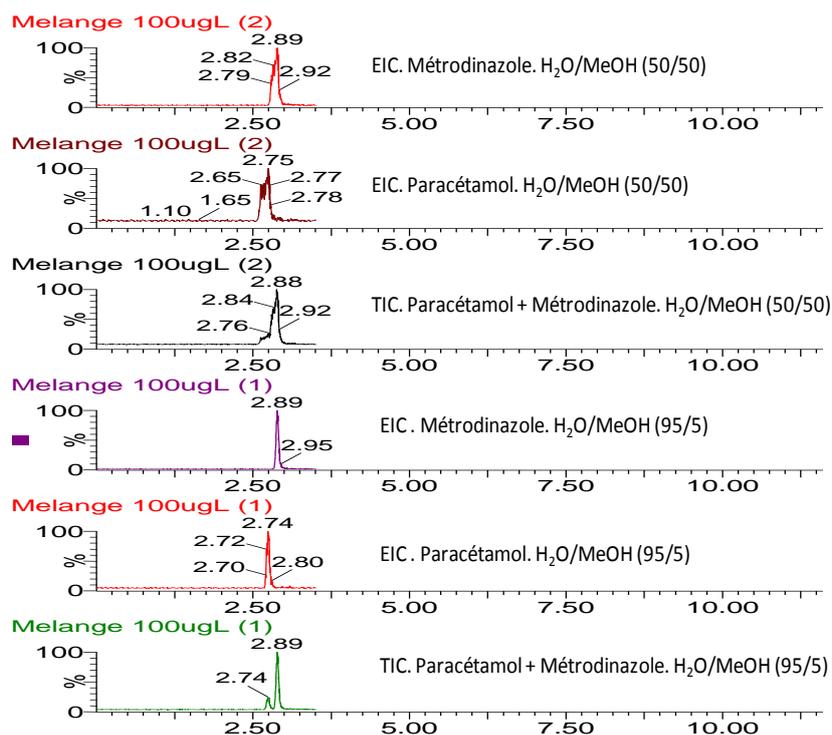


Figure 58 : Analyse du paracétamol et du métronidazole par C18 avec plusieurs mélanges de solvant d'injection.

Dans un solvant avec 100 % d'ACN analysé par HILIC [compatible avec les conditions du début de gradient chromatographique en HILIC (99 % d'ACN)], la Figure 59 montre que la forme du pic du métronidazole est gaussienne. Cette méthode d'analyse (dilution du composé dans 100 % d'ACN) a été choisie pour cette molécule car ces conditions corrèlent mieux avec le solvant utilisé pour la phase mobile.

En revanche, pour l'analyse du paracétamol, le pic chromatographique est toujours asymétrique en HILIC. Un compromis a dû être effectué : il a été analysé sur une colonne C18 en dépit de la symétrie du pic.

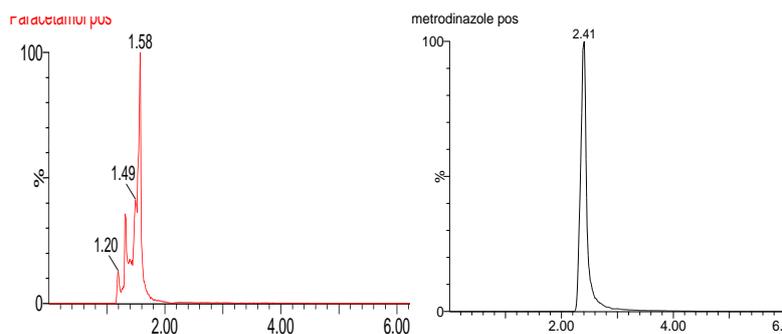


Figure 59 : Chromatogrammes de paracétamol (gauche) et du métronidazole (droite) dans l'ACN (100%) sur une colonne HILIC.

Des essais d'injection des contaminants avec divers types de solvants, notamment dans un mélange H₂O/MeOH (50/50), n'ont pas été réalisés sur la colonne Trinity car l'utilisation de cette dernière n'a pas été retenue : elle n'était spécifique que pour une seule molécule, le glyphosate (chapitre 3 section 2.1.4).

1.2 Influence de l'évaporation et de la resolubilisation des molécules lors du protocole SPE hors ligne

Le protocole Figure 55 indique que les composés analysés en LC-QqQ HILIC, C18 et GC, sont concentrés à sec puis repris avec un solvant adéquat. Il est donc important de s'assurer que les contaminants ne sont pas perdus à cause de l'évaporation et de leur resolubilisation par le solvant de reprise, choisi lors des étapes de concentration.

1.2.1 Composés semi-volatils (GC-MS)

Les composés modèles ont été préparés à une concentration de 100 µg/L et dilués dans 5 mL de MeOH. Cette solution a été évaporée à sec puis reprise dans 1 mL d'ACN (pour obtenir une concentration théorique de 500 µg/L) et analysée par GC/MS.

Pour mesurer les pertes lors de cette étape, une solution étalon de même concentration (500 µg/L) a été analysée en injection directe par GC-MS. Le recouvrement a été calculé en faisant le rapport des aires entre la solution concentrée et la solution étalon injectées en injection directe.

Comme l'indique la Figure 60, tous les composés de la liste « GC/MS » (chapitre 3 paragraphe 1) ont été détectés, notamment les composés les plus volatils, tels que l'acénaphène ou l'acétochlore.

L'acénaphène est récupéré à hauteur de 56 %. Probablement à cause de la perte par évaporation partielle de ce composé lors de l'étape de reconcentration de solvant. Pour les

autres composés, hormis l’heptachlore, des rendements supérieurs à 75% ont été obtenus. Pour l’heptachlore, qui est un composé semi-volatil, le rendement de 49% pourrait être attribué à des pertes d’adsorption et/ou un problème de resolubilisation dans l’ACN lors de ces expériences.

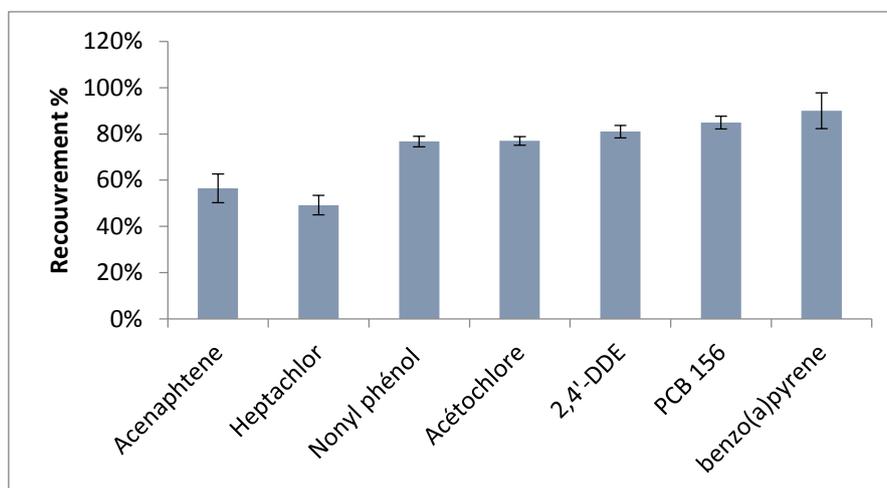


Figure 60 : Recouvrements des aires des composés en GC-MS suite à l’étape d’évaporation à sec (n=3)

Aucun des composés n’a subi une perte totale lors de cette étape. Il peut être conclu que dans un but qualitatif, les pertes sont acceptables lors de cette phase d’évaporation, car les recouvrements sont supérieurs à 50 %.

1.2.2 Composés polaires (LC-QqQ HILIC)

Les rendements présentés dans la Figure 61 confirment qu’il y a peu de pertes de composés lors de cette phase de reconcentration, car des rendements entre 80% et 120 % ont été retrouvés.

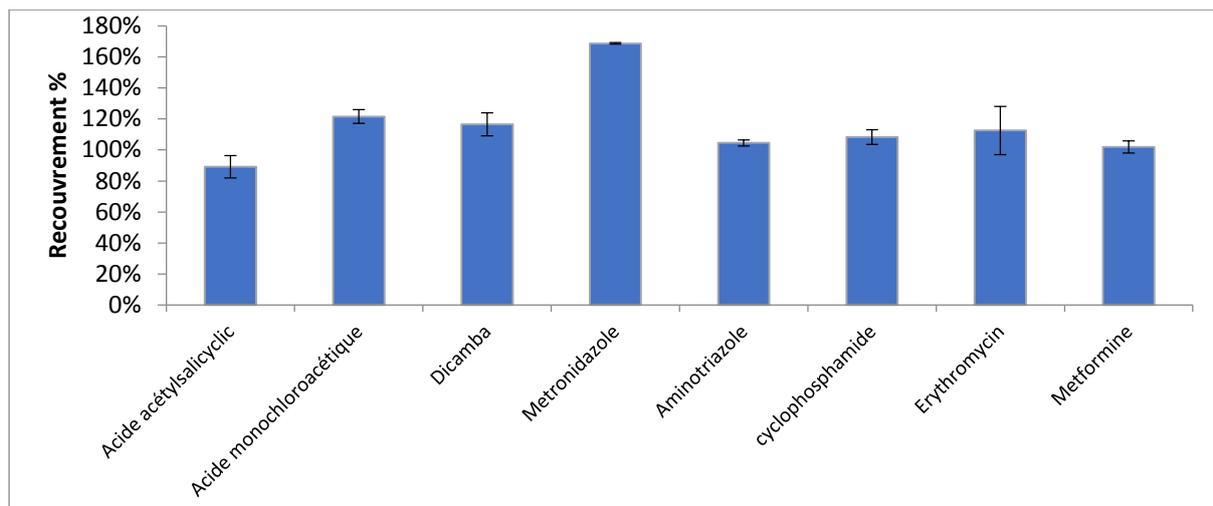


Figure 61 : Etudes des pertes lors de la phase de reconcentration des composés analysés en LC-QqQ sur une colonne HILIC (n=3)

De plus, à l'exception du métronidazole, les sept composés polaires ont été correctement solubilisés dans l'ACN. Il n'est donc pas nécessaire de rajouter une proportion d'eau pour favoriser leurs dissolutions.

Le métronidazole a un rendement à 165 %, qui peut être attribué à des problèmes lors de l'injection de la solution étalon.

1.2.3 Composés semi-polaires et polaires (LC-QqQ C18)

Afin de vérifier la solubilisation des composés et la compatibilité avec le choix des conditions d'injection chromatographique, deux compositions de reprise ont été étudiées : H₂O/ACN (50/50) et H₂O/MeOH (50/50). Les rendements sont présentés dans la Figure 62.

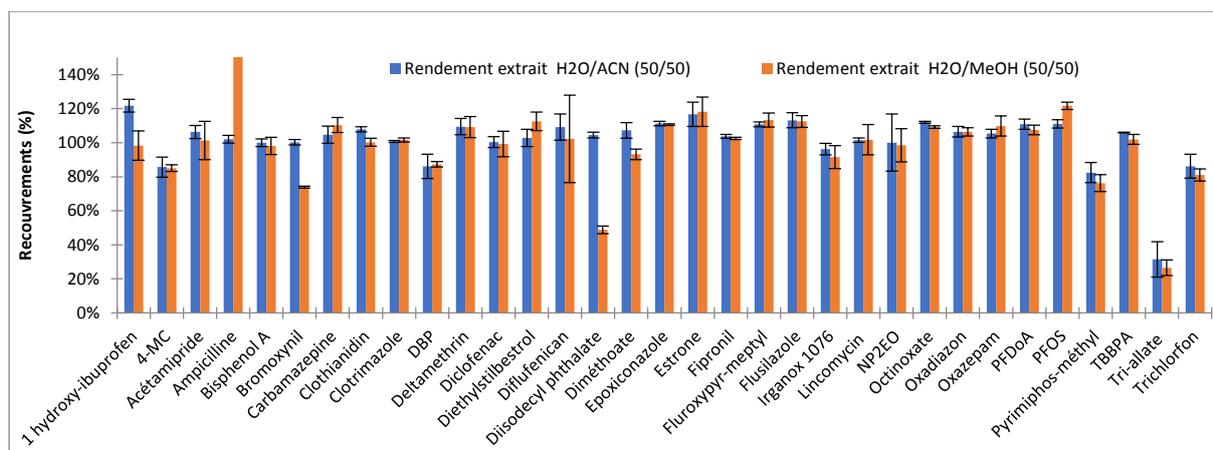


Figure 62 : Recouvrements des composés étudiés en LC-QqQ sur une colonne C18 (n=3)

La Figure 62 révèle que lors de la phase de concentration, aucun des composés n’a été totalement perdu. Les rendements obtenus se situent globalement entre 80 et 120 %, excepté pour le triallate. Mis à part pour le diisodécyle phthalate et le bromoxynil, les rendements en MeOH et en ACN sont sensiblement identiques. Les études chromatographiques effectuées sur le solvant de reprise en SPE ont montré que des formes de pics plus symétriques étaient obtenues lors de la resolubilisation avec du H₂O/MeOH (50/50) qu’avec H₂O/ACN (50/50) (Figure 56, Figure 57). Face à ce constat (Figure 58 et Figure 62), le MeOH a été sélectionné comme co-solvant organique dans le mélange de reprise [MeOH/H₂O (50/50)].

1.3 Conclusions méthodologiques

Une étude a été réalisée pour vérifier la perte des composés analysés en GC-MS et en LC-QqQ (HILIC et C18) lors de l’étape d’évaporation et de reprise de solvant. Il résulte que l’étape de reprise après évaporation n’affecte principalement que deux composés analysés en GC-MS (l’acénaphène et l’heptachlore). Dans une optique d’analyse qualitative, ces pertes sont néanmoins acceptables. Les conditions de reprise sont présentées Tableau 39.

Tableau 39 : Solvants de reprise avant l’analyse par chromatographie

| | Chromatographie | | |
|--------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------------|
| | GC-MS | LC-QqQ HILIC | LC-QqQ C18 |
| Solvant de reprise | 1 mL ACN | 1 mL ACN | 400 µL MeOH + 400 µL H ₂ O |

1.4 Etude du volume de phase sur une cartouche SPE Oasis HLB

Les manipulations préliminaires ont été faites avec l'extraction de 500 mL d'eau MilliQ dopées en composés modèles à une concentration de 1 µg/L. Les extractions avec des quantités de phase de 60 et 200 mg d'Oasis HLB ont été étudiées. Pour les deux expériences, les volumes d'élution sont de 5 mL de MeOH. Le but étant de déterminer la quantité de phase permettant l'extraction optimale de tous les analytes de la liste modèle.

38 % des composés analysés en LC-QqQ sur colonne C18 ont un rendement supérieur (d'au moins 20 %) avec un volume de phase de 60 mg par rapport à une extraction sur une cartouche de 200 mg. Seulement 6 % des analytes ont un rendement supérieur avec un écart d'au moins 20 % lorsqu'une cartouche de 200 mg a été employée.

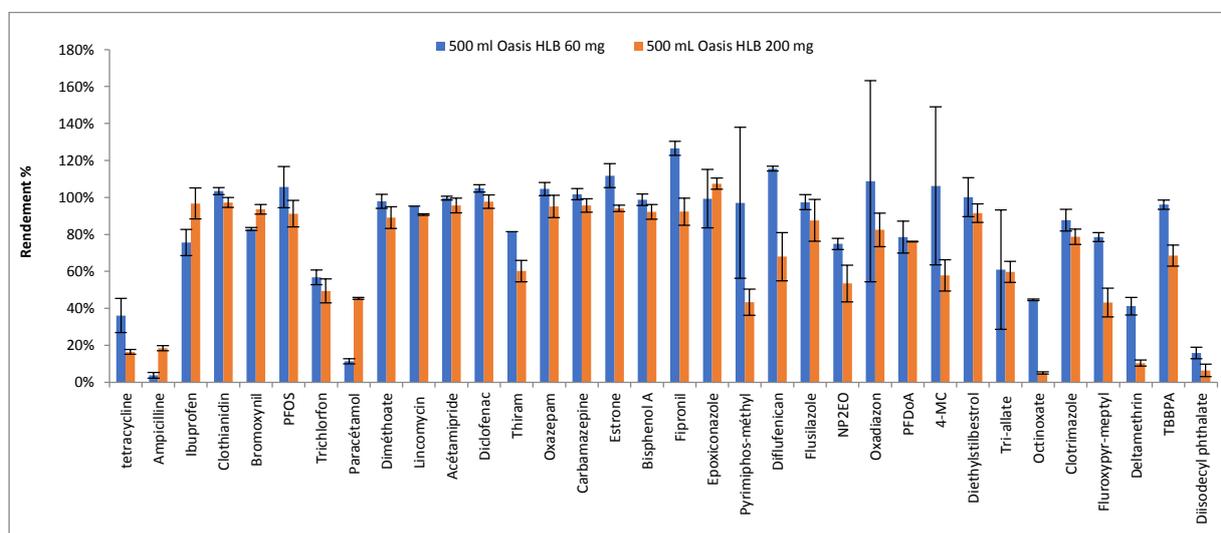


Figure 63 : Rendements d'extraction de 500 mL d'eau milliQ des composés à 1 µg/L sur des cartouches Oasis HLB (60 et 200 mg) pour les composés analysés sur une colonne C18 (n= 3)

37 % des composés analysés en LC-QqQ sur colonne HILIC présentent une tendance inverse à celle observée précédemment. Les composés analysés sur cette colonne étant relativement polaires, une quantité de phase plus importante a permis de mieux retenir les composés modèles. Avec une quantité moins importante, les molécules ayant peu d'affinités avec la cartouche ont tendance à ne pas être retenues par le support. Les rendements d'extraction sont donc plus faibles.

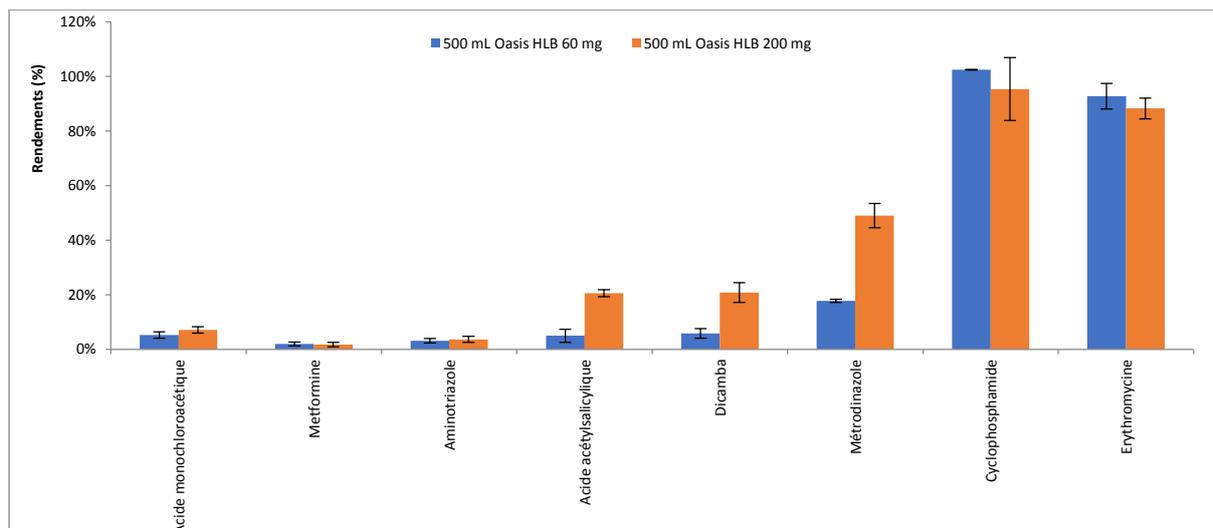


Figure 64 : Rendements d'extraction de 500 mL d'eau milliQ sur des cartouches Oasis HLB (60 et 200 mg) pour les composés analysés sur une colonne HILIC (n= 3)

Pour les composés apolaires analysés en GC (acétochlore, nonyl phénol, DDE, benzo(a)pyrène) et LC QqQ C18 (4-MC, octinoxate, fluroxypyr meptyl, deltaméthrine, TBBPA), des rendements faibles et des problèmes de répétabilité, notamment pour 200 mg de phase, ont été constatés (Figure 65).

L'élution a été réalisée avec 5 mL de MeOH. Pour ces expériences préliminaires, le volume d'élution n'a semblablement pas été suffisant pour éluer tous les composés sur cette quantité de phase. Le type de solvant peut ne pas être adapté à l'élution de ces composés. Un solvant moins polaire que le MeOH, tel que le dichlorométhane (DCM) ou l'ACN, peut faciliter l'élution des composés. Une quantité plus importante de MeOH peut également aider l'élution de ces composés.

Concernant le benzo(a)pyrène, sa solubilité dans l'eau est très faible ($3 \cdot 10^{-3}$ mg/L). Pour améliorer son rendement d'extraction, l'ajout d'une faible quantité de solvant apolaire dans les échantillons d'eau milliQ [H₂O/Isopropanol (80/20) (Olmos-Espejel, José et al. 2012) ; H₂O/ ACN (80/20) (Lai et al. 2004)] aurait été bénéfique.

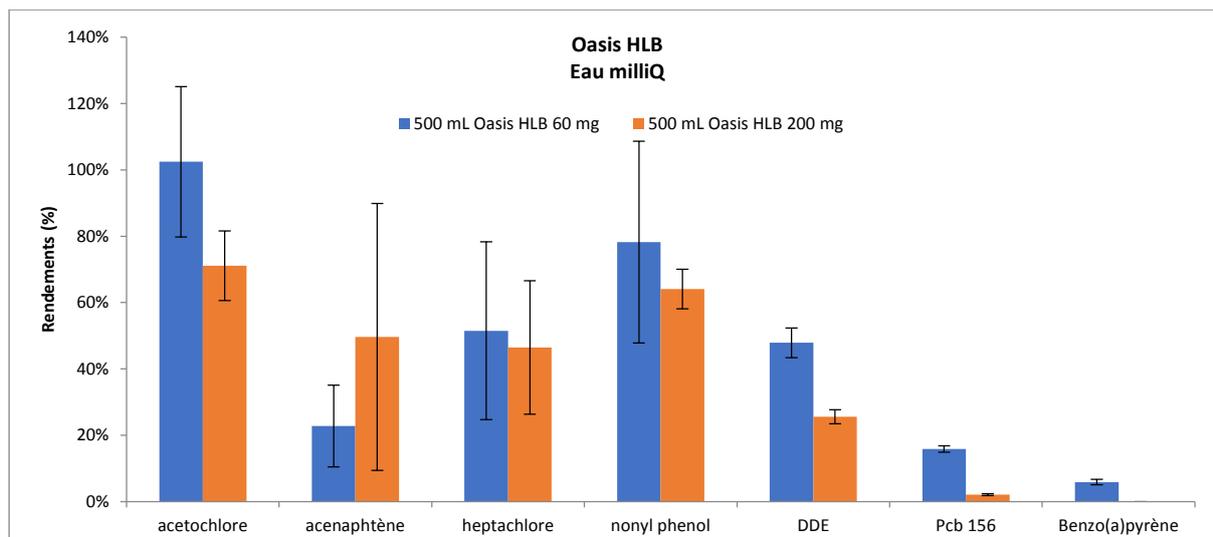


Figure 65 : Rendements d'extraction de 500 mL d'eau milliQ sur des cartouches Oasis HLB (60 et 200 mg) pour les composés analysés en GC

Au vu des faibles différences notées et de la répétabilité des analyses observées, l'utilisation d'une cartouche de 60 mg a été sélectionnée.

1.5 Volume d'extraction de l'échantillon sur une cartouche Oasis HLB

Un autre paramètre, le volume d'extraction ou volume de fuite, a été étudié. Ce dernier influe sur l'extraction, car si passer un grand volume d'échantillon à travers la cartouche permet la rétention d'une quantité plus importante de composés, le passage de volume d'échantillon trop important entraîne que certains composés fixés sur la phase peuvent s'en décrocher.

Plusieurs volumes d'échantillons à une concentration de 1 µg/L dans l'eau milliQ ont été testés pour le passage sur SPE : 50, 100, 200, 500 mL d'eau MilliQ. L'extraction a été réalisée sur la cartouche Oasis HLB 60 mg. Le pH de l'échantillon n'a pas été ajusté pour ces expériences.

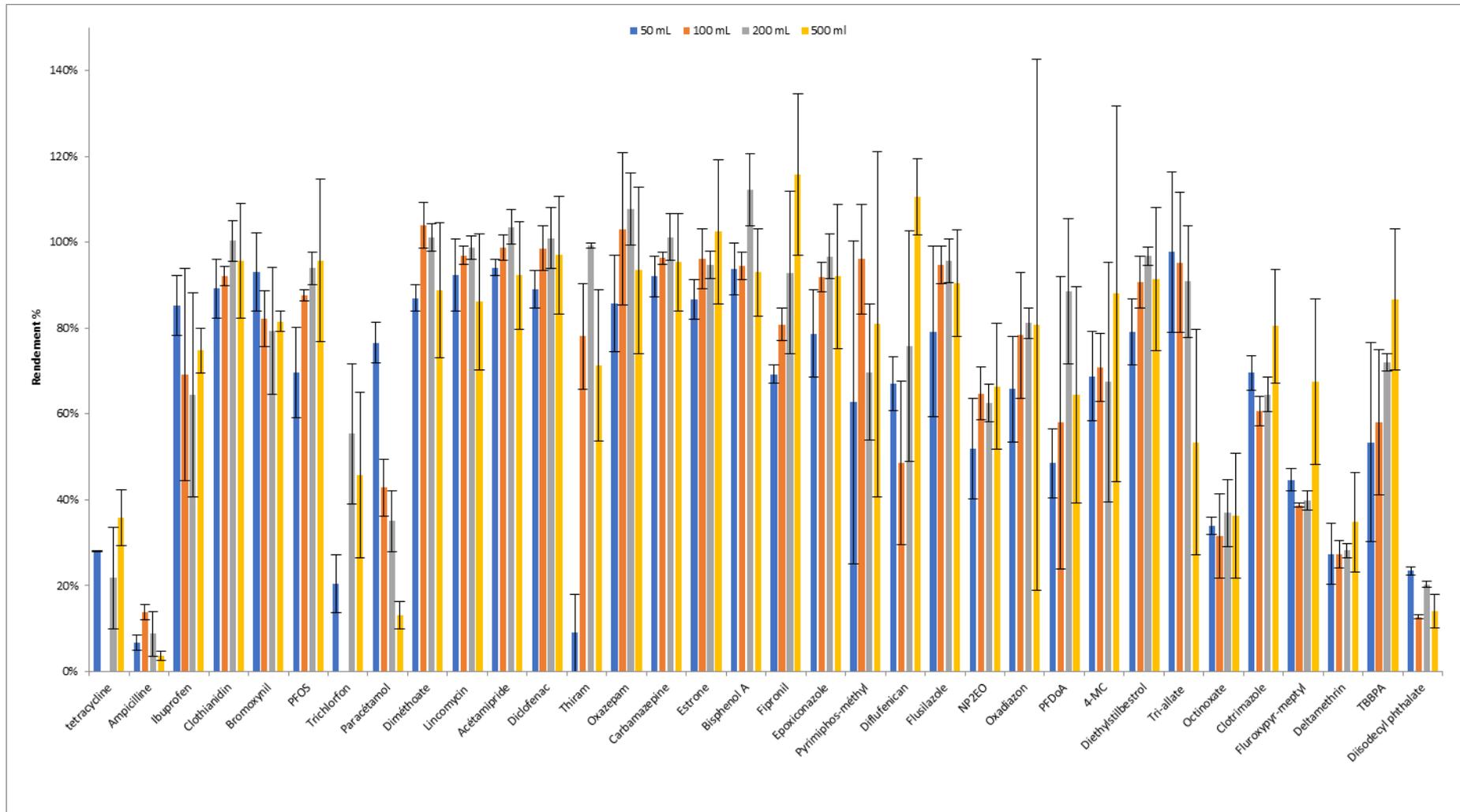


Figure 66 : Rendements d'extraction de volumes d'eau milliQ de 50, 100, 200 et 500 mL sur des cartouches Oasis HLB (60 mg) pour les composés analysés sur une colonne C18 (n=3)

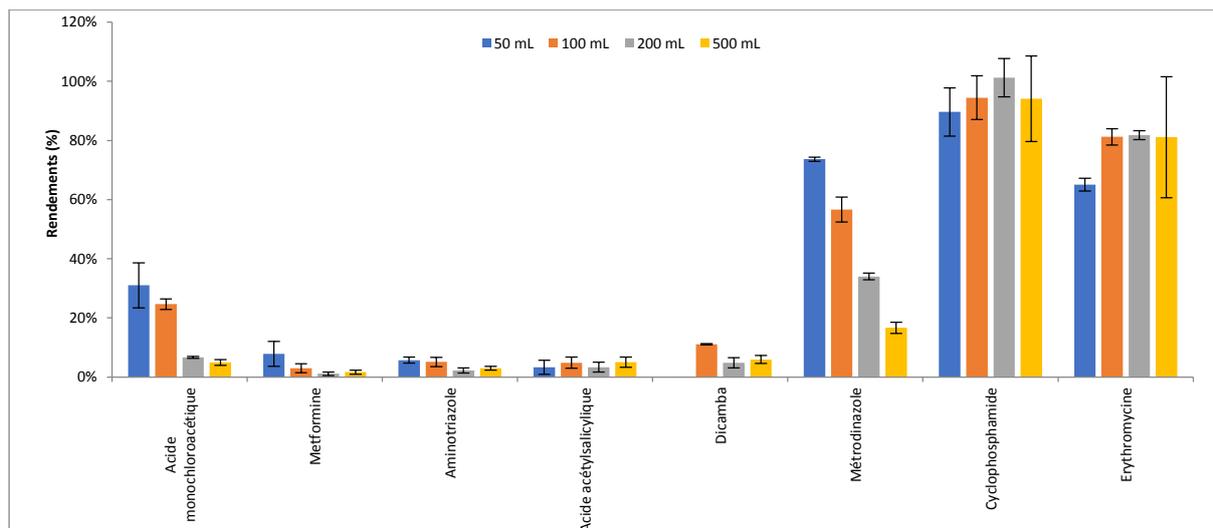


Figure 67 : Rendements d'extraction des composés pour des volumes d'eau milliQ de 50, 100, 200 et 500 mL sur des cartouches Oasis HLB (60 mg) pour les composés analysés sur une colonne HILIC (n=3)

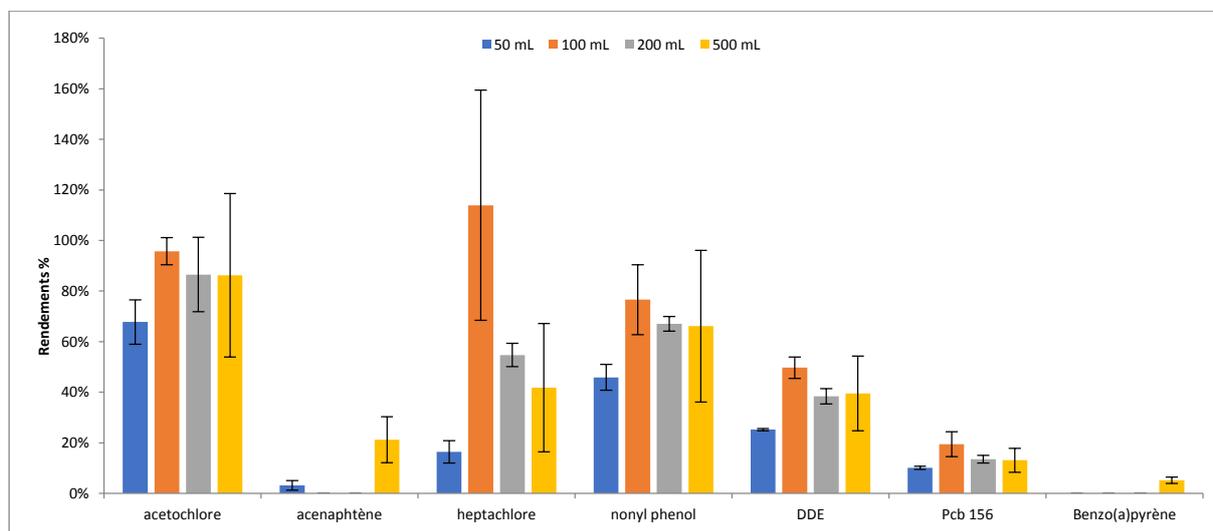


Figure 68 : Rendements d'extraction de volumes d'eau milliQ de 50, 100, 200 et 500 mL sur des cartouches Oasis HLB (60 mg) pour les composés analysés en GC-MS (n=3)

Les Figure 66, Figure 67 et Figure 68 montrent que pour les extractions d'un large volume d'échantillon (500 mL), les analyses sont moins répétables. Le volume d'échantillon est trop important par rapport à la quantité de phase (500 mL pour 60 mg).

Pour la majorité des composés, aucune différence significative n'a été constatée pour les volumes d'échantillon de 50, 100 et 200 mL. Seul 5 % des composés ont un rendement qui décroît en faisant passer un volume de plus en plus important d'eau.

L'extraction des composés comportant des groupements hydrophiles n'est pas très efficace avec la cartouche HLB. Cela est particulièrement évident pour les composés analysés sur la

colonne HILIC (ex : metformine, aminotriazole ...). Les composés ont très peu d'affinités avec ce support. Pour exemple, le rendement du métronidazole est de 74 % lorsqu'il a été extrait avec un volume de 50 mL, tandis qu'avec un volume de 100, puis 200 et 500 mL, son rendement diminue (respectivement 57, 34 et 17 %).

Une cartouche à rétention de phase inverse, telle que l'Oasis HLB, ne permet pas la rétention forte de ce composé. De ce fait, le passage de petits volumes d'échantillons permet d'éviter une forte migration à travers le support SPE.

Face aux résultats sur les composés polaires (ex : acide monochloroacétique) ou semi-polaires (ex : paracétamol), le choix d'utiliser de faibles volumes d'échantillon et de quantité de phase a ainsi été privilégié pour cette étude. Les manipulations suivantes ont été réalisées en extrayant 100 mL d'échantillon avec une quantité de phase SPE de 60 mg.

Lors de ces expériences, deux composés (le DBP et l'irganox 1076) n'ont pas été évalués à cause de problèmes importants au niveau des blancs. Par conséquent, ils ont été provisoirement retirés de la liste.

2 Développements en SPE hors ligne : synthèse des résultats de la Publication n°1

Cette partie présente les différents développements et résultats obtenus en SPE hors ligne. Dans ces travaux, les paramètres développés dans la partie précédente ont été repris (volume d'échantillon de 100 mL et quantité de phase SPE de 60 mg). Ils ont été appliqués sur plusieurs supports SPE offrant des mécanismes de rétention divers :

- ✓ Oasis HLB
- ✓ Oasis MCX
- ✓ Oasis MAX
- ✓ Oasis WCX
- ✓ Oasis WAX

Des supports hybrides ont été testés afin de viser la rétention simultanée de tous les composés modèles :

- ✓ cartouche en série : Oasis HLB + MCX
- ✓ cartouche multicouche : Oasis HLB + un mélange constitué de Strata -X-CW + Strata-X-AW + Isolute ENV +

Il a été montré que pour pouvoir extraire une large gamme de composés, des cartouches individuelles présentaient certaines limites. Des composés comme les acides forts (ex : les alkyles perfluorés) ont une forte affinité avec les phases de type d'échanges d'anions faibles. Les bases fortes, telle que la metformine, ont une affinité pour les phases de type d'échange de cations forts. La cartouche multicouche offrait le meilleur compromis pour retenir tous les composés en une seule et unique méthode d'extraction.

Cette cartouche étant conçue à façon au laboratoire, un des risques principaux peut provenir de sa fabrication et de la répétabilité des analyses. Ainsi, une cartouche Oasis HLB commerciale a été sélectionnée pour comparer ses performances à la cartouche multicouche, car parmi les supports commerciaux, elle permettait la rétention d'un plus grand nombre de composés.

Les rendements des méthodes d'extraction utilisant l'Oasis HLB et multicouche ont été déterminés dans différentes matrices :

- ✓ eau de source
- ✓ eau de rivière

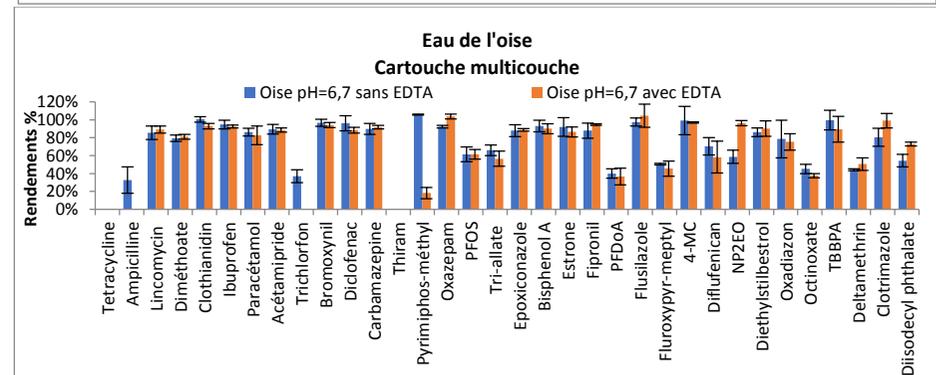
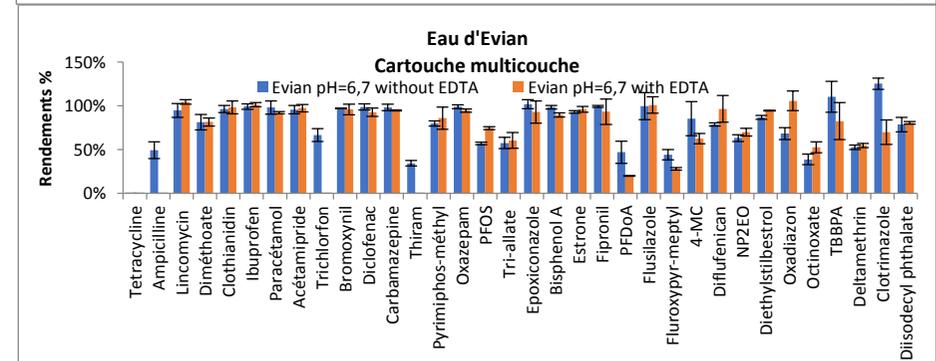
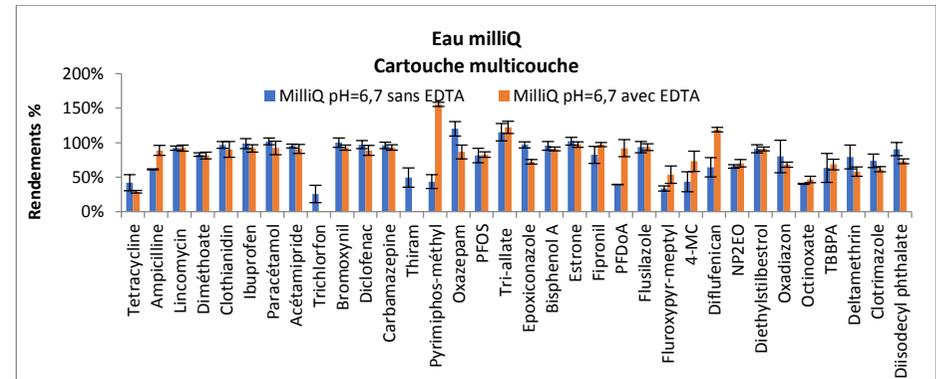
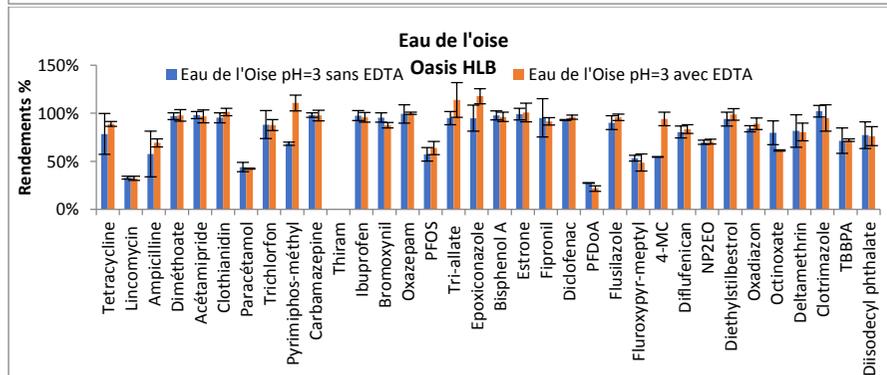
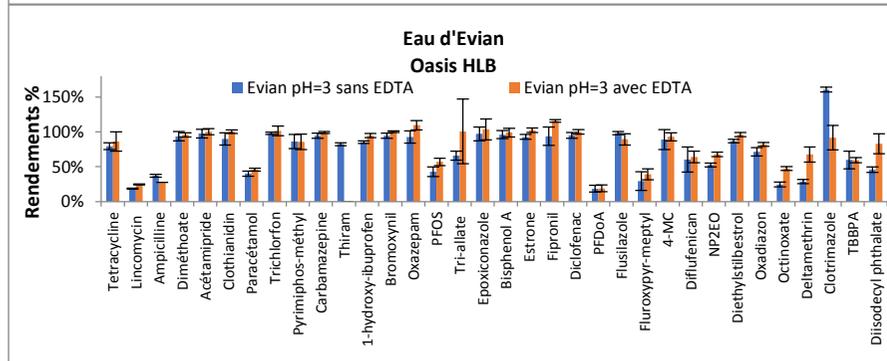
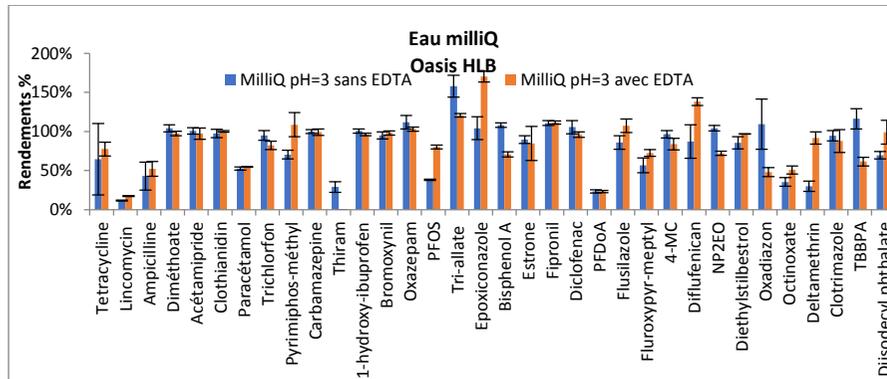
Les résultats ont montré que plus la matrice était chargée en contaminants, plus les effets de matrices se faisaient ressentir (spécialement pour la cartouche multicouche).

Globalement, la méthode d'extraction par SPE présente des limites, notamment au niveau des composés ubiquistes. Ces derniers étant omniprésents, notamment dans les blancs d'injection directe, la SPE hors ligne rajoute des étapes de préparation qui favorisent la contamination par ces derniers.

3 Influence de l'ajout d'un agent de chélation (cartouches Oasis HLB et multicouche)

Pour éviter la complexation des composés polaires avec d'autres éléments, tels que les minéraux et l'adsorption des molécules sur le flaconnage, un agent de chélation [Éthylène Diamine Tétra-Acétique (EDTA)] a été ajouté dans les échantillons avant extraction.

L'effet de l'EDTA a été étudié dans les trois matrices (milliQ, eau de source et de rivière). Les extractions ont été réalisées sur deux cartouches : Oasis HLB et multicouche. Il a été utilisé à 0,05 % dans l'échantillon avant extraction par SPE sur les 2 cartouches.



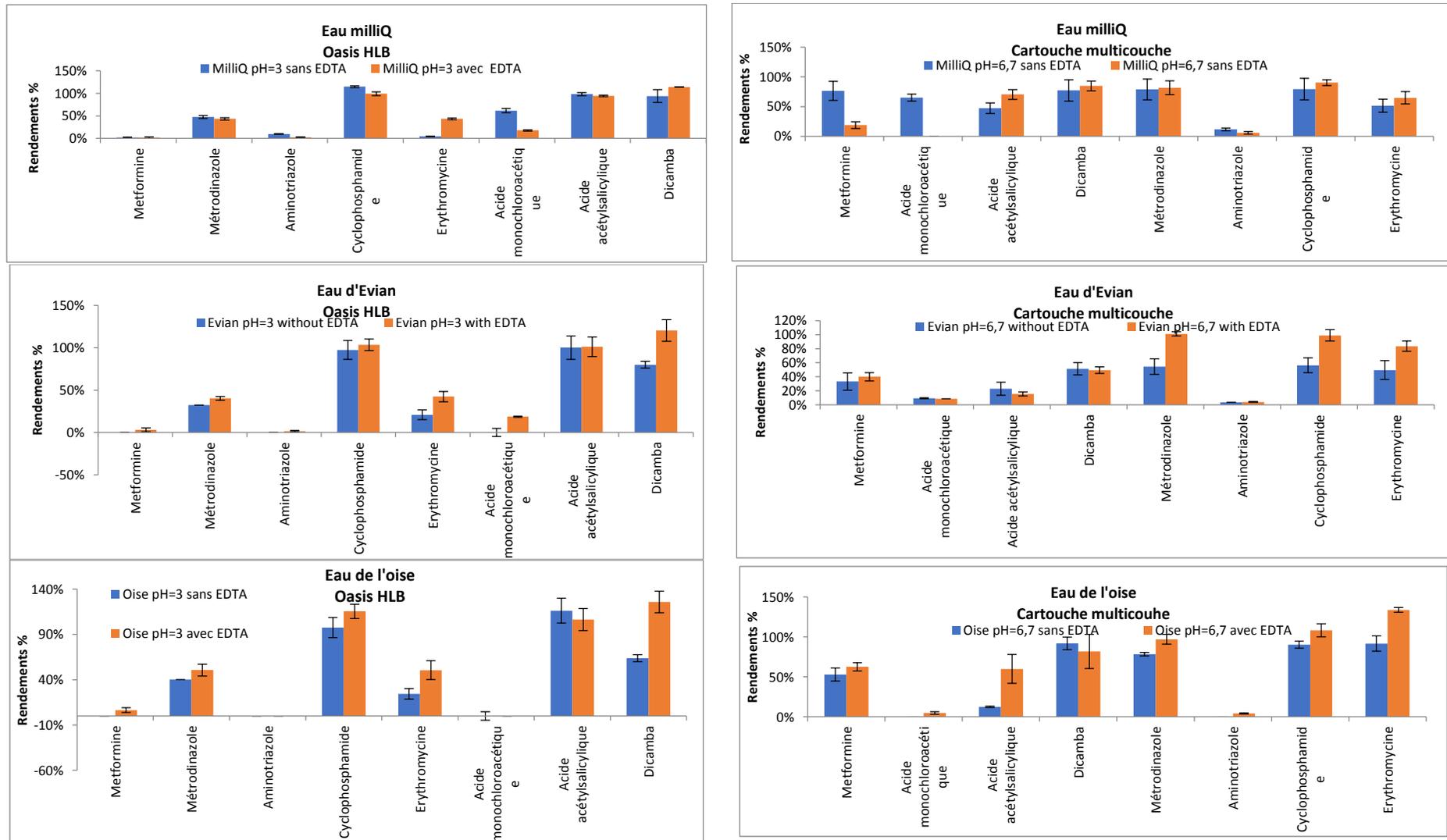


Figure 69 : Extraction des composés dans l'eau milliQ, d'Evian et de l'Oise sur les cartouches Oasis HLB et multicouche en présence d'EDTA, pour les composés modèles analysés en C18 et HILIC

Pour l'extraction des échantillons d'eau milliQ sur la cartouche HLB, la présence de cet agent a permis l'amélioration des rendements de 17/34 (50 %) composés (ex : PFOS). Cependant, sur ces 17 molécules, seulement cinq présentent un gain en rendement supérieur à 20 %.

Pour l'extraction de deux composés (tétracycline et oxadiazon), l'ajout de l'EDTA a contribué à réduire les écarts type et donc certaines variabilités (notamment au niveau de l'absorption des molécules sur le flaconnage) rencontrées lors des étapes d'extractions. La Figure 69 montre justement qu'en présence d'EDTA, l'extraction de la tétracycline est beaucoup plus répétable qu'en son absence. L'écart type est amélioré d'un facteur 5 (de 46 % à 9%). Il en est de même pour l'oxadiazon avec un écart type évoluant de 32 % à 6 %.

Lorsque les composés ont été extraits avec la cartouche multicouche dans l'eau milliQ, les résultats étaient sensiblement les mêmes que lorsque l'EDTA a été ou n'a pas été ajouté aux extraits.

En matrice réelle (source et de rivière), la tétracycline n'avait pas été extraite sur la cartouche multicouche sans l'ajout de l'EDTA. Son ajout n'a pas favorisé l'extraction de ce composé. Il en est de même pour l'ampicilline. En revanche, ces deux composés ont été extraits sur l'Oasis HLB en présence et en absence de l'EDTA, avec des rendements d'extraction similaires (75%) et un écart type situé entre 3 et 20 %.

Concernant les composés les plus polaires, analysés en LC-QqQ (HILIC), la Figure 69 révèle qu'il y a une amélioration du rendement d'extraction pour l'érythromycine (44 % en présence d'EDTA, contre 5 %) dans l'eau milliQ avec l'Oasis HLB. Pour la cartouche multicouche néanmoins, le rendement de la metformine a été diminué en présence d'EDTA (19 % de rendement, contre 77 % de rendement sans EDTA). En matrice plus complexe, l'EDTA a permis d'améliorer les rendements d'extraction de quelques composés dans l'eau d'Evian et de l'Oise (métronidazole, cyclophosphamide et érythromycine).

L'addition de l'EDTA a été reportée comme un agent permettant d'augmenter le rendement de la tétracycline (Yang and Carlson 2003). L'analyse de certains composés (sulfonamide, tétracycline, analgésiques et hormones), à pH = 4, sur une cartouche Oasis HLB (200 mg), présentait de meilleurs rendements quand l'EDTA a été ajouté avant l'extraction (Pailler et al. 2009). Les rendements étaient de 32 % lorsque l'EDTA n'avait pas été ajouté dans l'échantillon après filtration ; tandis qu'avec l'ajout de cet agent, le rendement était de 73 %.

Pour d'autres composés, tels que la sulfaméthazine ou le diclofénac, les rendements étaient également améliorés (ex : respectivement de 76 et 67 % sans l'ajout d'EDTA et 85 et 91 % avec l'ajout de ce dernier). Avec les méthodes développées sur les cartouches Oasis HLB et multicouche, l'ajout d'EDTA n'est pas nécessaire, car les rendements de ces derniers étaient supérieurs à 90 %. La tétracycline n'a pas été extraite sur la cartouche multicouche. Néanmoins, avec l'Oasis HLB à pH = 3, le rendement obtenu par Pailler et al. (2009) et celui avec la méthode Oasis HLB dans cette thèse sont similaires (73 %)

En conclusion, l'ajout de l'EDTA n'est pas indispensable pour l'extraction de la tétracycline, le diclofénac ou la sulfaméthazine car les mêmes rendements ont été retrouvés. Toutefois, l'ajout de cet agent a permis d'obtenir de meilleures répétabilités, notamment pour l'extraction de la tétracycline. Au vu de ces résultats, il est difficile de distinguer une tendance générale. L'EDTA est spécialement utilisé pour des applications spécifiques sur un nombre restreint de composés (Segura et al. 2011). Il peut être conclu que l'ajout de cet agent n'est pas significativement avantageux si des analyses multirésidus sont considérées pour des matrices complexes. Ainsi, il n'a pas été ajouté et utilisé pour les autres expériences de ces travaux.

4 Sensibilité en LC-QqQ pour les cartouches Oasis HLB et multicouche

Les performances en termes de sensibilité de la méthode LC-QqQ en SPE hors ligne pour des applications environnementales ont été évaluées à partir des extractions effectuées sur les cartouches Oasis HLB et multicouche dans les eaux (milliQ et Oise) et du rapport S/N. Les méthodes et les conditions d'extraction pour déterminer les niveaux de sensibilités sont présentées dans le chapitre 2 section 4.2.1.1, 3.1.3.1, 3.1.3.3.2.

La Figure 70 montre que lorsque les extractions ont été réalisées avec la cartouche multicouche, 25 % des composés présentent une sensibilité < 10 ng/L, 33 % entre 10 et 50 ng/L, 13 % des contaminants entre 50 et 100 ng/L et 19 % entre 100 et 500 ng/L. En matrice d'eau de rivière, 16 % des contaminants sont à < 10 ng/L tandis que 38 % ont des niveaux de sensibilités entre 10 et 50 ng/L. Des effets matriciels ont donc été observés, car 6 % des contaminants n'ont pas été détectés, avec un rapport S/N, dans ce cas inférieur à 3.

Quand la cartouche Oasis HLB a été employée, 19 % des contaminants présentent des niveaux de sensibilité inférieurs à 10 ng/L, lorsqu'ils ont été extraits dans l'eau milliQ, tandis que pour l'extraction de ces molécules dans l'eau de l'Oise, 17 % ont ces gammes de sensibilité. Quelles que soient les matrices étudiées, plus de 30 % des composés ont des LQ > 100 ng/L.

Pour des applications environnementales, il peut être signalé que les concentrations au-delà de 100 ng/L sont relativement élevées car les polluants sont rarement présents dans les milieux à ces niveaux. Les extraits ont été repris dans 1 mL de solvant. Afin d'améliorer la sensibilité des analyses, le volume de reprise pourrait être réduit à 500 µL ou 200 µL ou le volume d'injection augmenté à 20 µL.

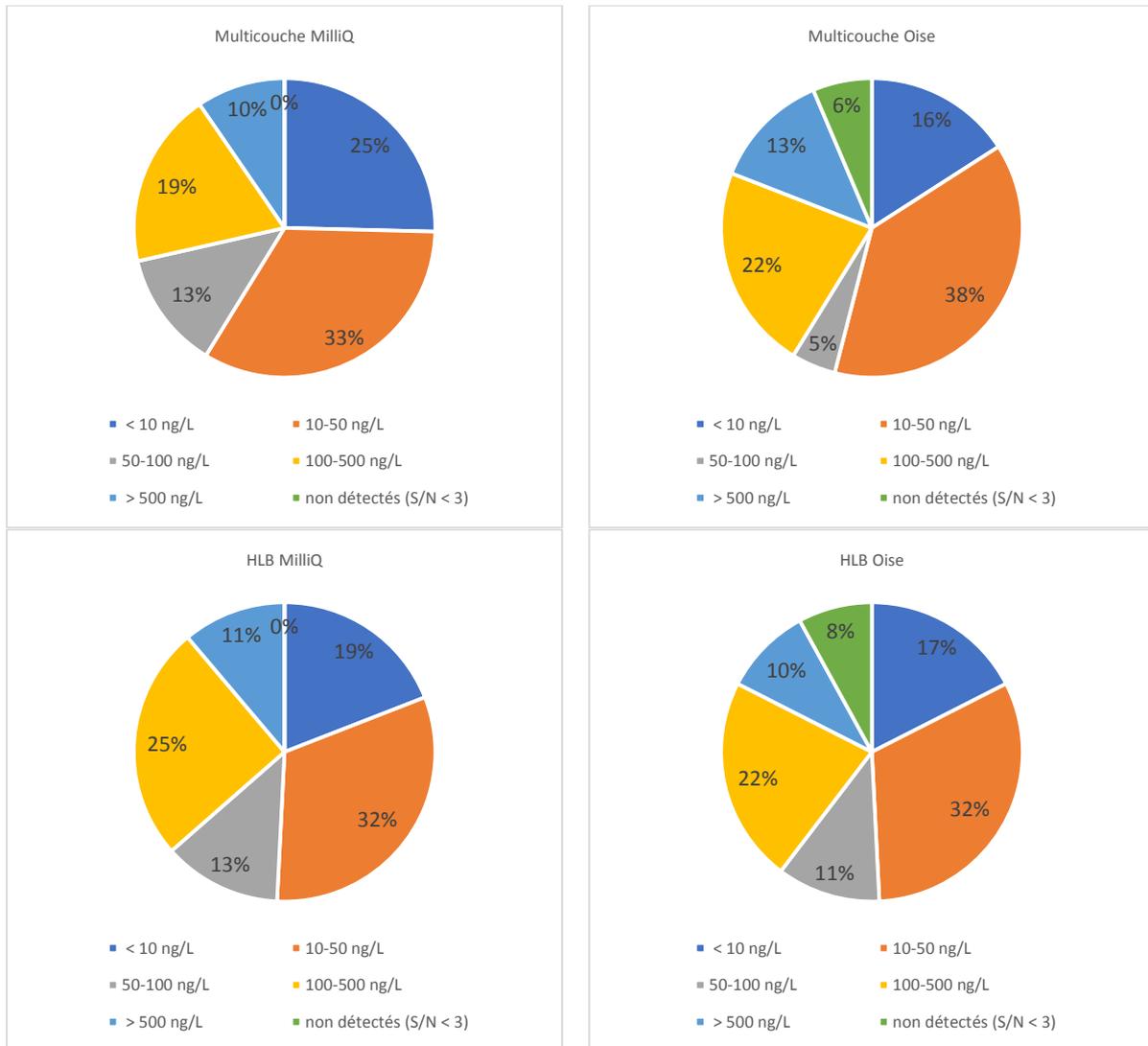


Figure 70 : Sensibilités des méthodes LC-QqQ en SPE hors ligne sur les matrices milliQ et rivière avec les cartouches Oasis HLB et multicouche

Publication n°1: *Evaluation of offline solid phase extraction approaches for the pre-concentration of a wide range of environmental pollutants in water matrices*

Le supplementary material se trouve dans l'Annexe 5

Evaluation of offline solid phase extraction approaches for the pre-concentration of a wide range of environmental pollutants in water matrices

Daniel LEONCO^{1,2}, Claudine CHATELLIER¹, Jérôme BEAUMONT¹, Patrick PARDON^{2a}, Marie-Hélène DEVIER^{2a}, François LESTREMAU¹, Hélène BUDZINSKI^{2b*}

(1) INERIS, Direction des Risques Chroniques-Parc Technologique Alata - BP 2 - 60550 Verneuil-en-Halatte

(2^a) Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805 LPTC, 351, Cours de la Libération, 33405 Talence, France

(2^b) CNRS, EPOC, UMR 5805 LPTC, 351, Cours de la Libération, 33405 Talence, France

*Corresponding author: Hélène Budzinski

E-mail address: helene.budzinski@u-bordeaux.fr

Abstract

Toxicological analyses have demonstrated that the pollutants present in the aquatic environments can be toxic at ng/L levels. Sensitive analytical techniques are then required. Chromatographic techniques coupled to mass spectrometry represent the most efficient way to obtain a sensitive and large detection range but preconcentrating techniques are still needed to reach this level. The aim of this work was to evaluate enrichment methods by Solid Phase Extraction for extracting a large range of compounds and to determine the advantages and the limitations for each tested condition.

A list of 69 representative model compounds of pollutants commonly determined in aquatic environment with particular focus on polar compounds was established and used for the tests. Several phases, reverse and mix mode (weak, strong anion and cation) were tested individually. The Oasis HLB phase enabled to recover most of the compounds but the most polars could only be retrieved using the specific ionic phases. As a unique cartridge (reverse phase or mix mode) was not sufficient to retain all tested compounds, stacked or multilayer cartridges were employed with the latter producing a better compromise for extracting most of the tested compounds. Overall, with milliQ water, and the Oasis HLB phase, about 70 % of selected contaminants had recoveries over 60 % whereas for the multilayer cartridge, about 80 % were extracted at this level. The influence of the complexity of the matrix was significant since with a river water, the percentage of contaminants recovered over this level decreased to 73 and 70 % for respectively the Oasis HLB and the multilayer cartridges.

1. Introduction

It is now widely recognized that aquatic environments host many pollutants representing a high ecotoxicological risks. However, presently, the knowledge about the number and the nature of the pollutants in aquatic environments appear currently limited.

Their monitoring is generally being performed on a pre-established list of targeted pollutants based on current knowledge. The Effect Direct Analysis (EDA) studies (Creusot, Tapie, et al. 2013; Creusot, Budzinski, et al. 2013; Creusot et al. 2014) have shown that some biological activities could be weakly explained with target analytical approaches. Moreover, non-target screening approaches have also demonstrated the presence of a large number of contaminants in water matrices (Moschet et al. 2017). It thereby demonstrated that many other substances, unknown or uncharacterized, are also responsible of disrupting effects in the aquatic environment. Therefore, the development of screening type approaches (biological and physicochemical) is essential to produce a more complete characterization of the environmental contamination and enable the establishment of adequate monitoring programs for improving the protection of the environment.

Toxicological analyses have demonstrated that the pollutants present in the aquatic environments are toxic at ng/L levels. Sensitive analytical techniques are then required to achieve such levels. In this respect, chromatographic techniques coupled to mass spectrometry represent the most efficient way to obtain a large and sensitive detection range.

Environmental pollutants have also very diverse physico-chemical properties in terms of volatility and polarity. Therefore, there are major difficulties to analyze all the pollutants in a single step. Direct injection of the sample possesses the advantage of being non discriminant, for problematic compounds such as very polar substances can represent an interesting option (Loos et al. 2010). However, in this case, to reach the relevant environmental levels, large injection volumes must be proceeded. Many interferences from the matrix are then also directly injected in the analytical system which can disrupt ionization of the compounds of interest or complicate data treatment. Furthermore, for the most complex matrices, the sample must be often diluted so the required traces level cannot be reached.

In the large majority of cases, a pre-concentration step is therefore required. The most practical and efficient way is solid phase extraction (SPE). However, there is currently not a sorbing phase, which could be suited for a “universal” trapping of organic pollutants. The pre-concentration of the analytes with a reverse phase type have been generally employed for the multi-residue analysis (Gómez et al. 2010; Diaz et al. 2013). The Oasis HLB phase (Hydrophilic-Lipophilic-Balanced) is commonly used for multi-residue method analysis (Pelajic et al. 2016; Pitarch et al. 2016) and composed of a co-polymer of divinylbenzene-N-vinylpyrrolidone . This support is adapted for multi-residue methods since it can display hydrophobic and moderate lipophilic interaction. Polar substances are best extracted in their neutral form to benefit from enhanced hydrophobic interaction. Other types of cartridge with similar properties such as Strata-X (Nurmi and Pellinen 2011) or others types of reverse phase such as C₈ or C₁₈, PLRPS-s have also been reported (Kampioti et al. 2005). Nödler et al. (2010) compared different mix mode and reverse phase (Bond Elut Plexa, Strata-X, Bond Elut PLP, Isolute ENV + and AbsElut Nexus, Oasis HLB) cartridges, particularly the best results obtained with the Oasis HLB.

Oasis HLB and Strata-X are adapted for the extraction of compounds usually in a range between $0 < \text{Log } D_{O/W} < 8$. The recoveries for molecules with ionisable groups can be improved by setting the pH to obtain their neutral form (either for the acid compounds at low pH or basic compounds at high pH). In these conditions, these cartridges are suitable for the extraction of a wide range of neutral organic molecule or having moderate basic or acidic groups. However, they display very limited retention for highly polar compounds ($\text{log } D_{O/W} < 0$) (Huntscha et al. 2012).

Depending on the functional groups (acid or basic), these polar substances possesses very different properties. Use of specific phases (and pH) including ionic groups have to be used to retain them (Nurmi and Pellinen 2011). Therefore, mixed-mode cartridges composed by a part hydrophilic, hydrophobic and a specific ionic group (either weak or strong, anion or cation) have been developed. These cartridges are employed, depending on the application, to generally target specific families of substances (e.g. weak or strong cationic groups (i.e. Oasis WCX or MCX from Waters or Strata-X-CW or X-C from Phenomenex) for moderate acid compounds, weak or strong anionic groups for basic compounds (i.e. Oasis WAX or MAX from Waters or Strata-X-AW or X-A from Phenomenex)

For the simultaneous analysis of polar, non-polar and ionic compounds, several strategies have been developed. Thereby, a stacked cartridge approach with use of a mixed-mode cartridge (Oasis MCX or Strata X-C) on the top and below, a reverse phase cartridge (Oasis HLB or Strata X) has been evaluated by Nurmi & Pellinen 2011. The results showed that the two best cartridges were the Oasis MCX on top and then the Strata-X with samples extracted at an acidic pH.

Multilayer cartridges have also been employed with a homemade cartridge composed with a first layer of Oasis HLB and a second layer of a mixture of Strata AW/Strata CW/Isolute ENV + (1/1/1,5) (Kern et al. 2009; Huntscha et al. 2012; Schymanski et al. 2014). This cartridge was used to extract in ground, surface and wastewater with focus on 88 polar organic compounds.

In this work, the concept of using complementary phases is to reduce to a single step the extraction of targeted compounds while many analyses have to be carried out with extraction with multiple single phases approach. Consequently, the analysis is performed in a single run (or in a limited number of runs if several chromatographic methods, positive and negative acquisition modes are used) which simplify the overall analytical process. For multiple extraction/analysis of the same sample, the signal generated for each injection must be treated. As the data analysis represents the most demanding step, time wise, in multi-residue/nontarget screening approach, ideally, an exhaustive single step analysis can be considered as a more optimal option.

Therefore, the aim of this study was to evaluate various pre-concentration SPE strategies for the analysis of a wide range of compounds and highlights their respective advantages and limitations in this frame. Qualitative aspect is mainly considered since a screening approach is aimed (although low recoveries will directly impact the level of detection).

Chromatographic methods coupled to mass spectrometry were used to analyze the selected molecules. LC-QqQ was used to analyze polar and semi-polar compounds. For the most polar compounds, an HILIC method was performed while other components were run on a C18 column. GC-MS was employed to analyze non-polar contaminants. A list of about 49 representative model compounds of pollutants commonly determined in aquatic environment (pharmaceuticals, pesticides, surfactants, perfluorinated alkyls, plasticizers,

Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAHs), Polychlorinated biphenyl (PCB), flame retardant, disinfection product and UV filter) have been chosen and used for the initial evaluation of SPE phases. Contaminants were also selected to represent a wide range of polarity (polar, semi and non-polar compounds). In addition, a larger range of polar compounds (20 pollutants) were used to obtain a better evaluation of the extraction performances for the selected SPE phases.

In a first part, commercial cartridges, reverse phase mechanism (Oasis HLB), cation exchange (Oasis MCX and WCX) and anion exchange (Oasis MAX and WAX), were tested with the first list of components with milliQ water. Homemade cartridges, stacked cartridge (Oasis HLB + MCX) and multilayer cartridge, were also evaluated. The pH of the extraction and of the elution were particularly considered for all cartridges. The 2 best performing cartridges, the Oasis HLB and the multilayer cartridges were selected and evaluated on the extended list of model compounds on more representative and complex matrices (source and river water).

2. Materials and methods

2.1 Model compounds

In the aim of testing the extraction of a wide range of substances, several representative model compounds of pollutants commonly determined in aquatic environment were selected. To constitute the target list, substances were chosen from priority pollutants from the Water Frame Work directive (The European Parliament and the Council of the European Union 2013), from the European Watch list (The European Parliament and the Council of the European Union 2015) and from a French directive related to the regular monitoring of relevant substances in aquatic environment (Arrêté du 7 août 2015). This latter list of pollutants was originally deriving from a prospective study of emerging pollutants carried out on over 200 substances in France in 2012 (Botta and Valeria 2014). The analytes were also selected to represent a large range of physico-chemical properties, from semi-volatiles to non-volatiles, from polar to apolar compounds (from $\log D = -5.23$ (metformin) to $\log D = 9.75$ (diisodecyl phthalate) at $\text{pH}=6.7$ Table S 1)). Volatile compounds were however not considered. To be able to analyze correctly this class of compound, a headspace analysis performed directly on the water sample (with a pre-concentration with SPME for instance as

used in the standard (ISO 17943 2016) could be performed before the extraction by SPE but it was out of the scope of this work.

2.2 Chemicals and materials

The organic contaminants selected in this work and their purity are shown in Table S 1 (pollutant analyzed by LC-QqQ C18 and HILIC and contaminants analyzed by GC-MS). All standards were purchased from Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France), BCP instrument (Irigny, France) and Interchim (Montluçon, France).

Ammonium hydroxide solution (NH₄OH) (99.9%), LC-MS grade methanol (MeOH) and acetonitrile (ACN) (≥ 99.9%) were obtained from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Ammonium acetate (> 98%) and formic acid (> 98%) were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Ultra-pure water was supplied by a Milli-Q water purifier system from Millipore (Bedford, MA, USA). Acetic acid (100%) were purchased from VWR BDH Prolabo (Leuven, Belgium).

During method development, different SPE sorbents were investigated: Oasis HLB (60 mg, 3mL), Oasis MAX (60 mg, 3mL), Oasis WAX (60 mg, 3mL), Oasis WCX (60 mg, 3mL) and Oasis MCX (60 mg, 3mL) from Waters (Saint Quentin en Yvelines, France). To constitute the multilayer cartridge, Strata-X-AW and Strata-X-CW were obtained from Phenomenex (Le Pecq, France) and Isolute ENV + from Biotage (Uppsala, Sweden).

2.3 Preparation of the stacked and multilayer cartridge

A stacked cartridge was assessed with Oasis HLB as first material and Oasis MCX as second material. The multilayer cartridge was composed by 60 mg of Oasis HLB then a 105 mg of a mixture of Strata-X-AW /Strata-X-CW/ Isolute ENV + (1/1/1.5). The amount of phase has been proportionally reduced compared to other investigations (Kern et al. 2009) as to compare with other supports used in this work.

2.4 SPE extraction

The extraction (pH condition) and the elution (nature of the solvent) procedure of contaminants depended on the nature of the phase.

The procedure for the sample extraction is presented in Fig 1. Contaminants were spiked in MilliQ water at 1 µg/L. Cartridges were conditioned with 5 mL MeOH followed by 5 mL H₂O (the pH of the conditioning phase was set to match the pH of the sample). The pH of the sample was adjusted with formic acid (HCOOH) or ammonium hydroxide (NH₄OH). Briefly, the procedure of the sample extraction can be decomposed in 3 steps. For the first step, 100 mL were loaded onto the cartridges with a flow at 10 mL/min followed by 30 min drying. Analytes were eluted twice with a relevant solvent depending on the cartridge tested (MeOH, MeOH + 5 % NaOH, MeOH + 5 % HCOOH, MeOH/Ethyl acetate (50/50) + 2 % NH₄OH or MeOH/Ethyl acetate (50/50) + 1.7 % HCl) with a flow at 5 mL/min. MeOH is more commonly employed (Loos et al. 2010; Díaz et al. 2012) since it represents a better solvent to elute polar compounds compared to ACN. So, this solvent was used for the elution step. The nature of the solvent and of the buffers for the conditioning and the elution step for all cartridges are detailed in the Table S 3.

The two fractions were collected and analyzed separately in a second step, the solvent was evaporated and 1 mL of ACN was added. 200 µL were collected for GC-MS (100 µL) and LC-QqQ (HILIC) (100 µL) analysis. In the third step, the remaining solution (800 µL) was dried up and 400 µL of MeOH then 400 µL of H₂O (MilliQ water) were added to perform the LC-MS/MS analysis using reverse phase column.

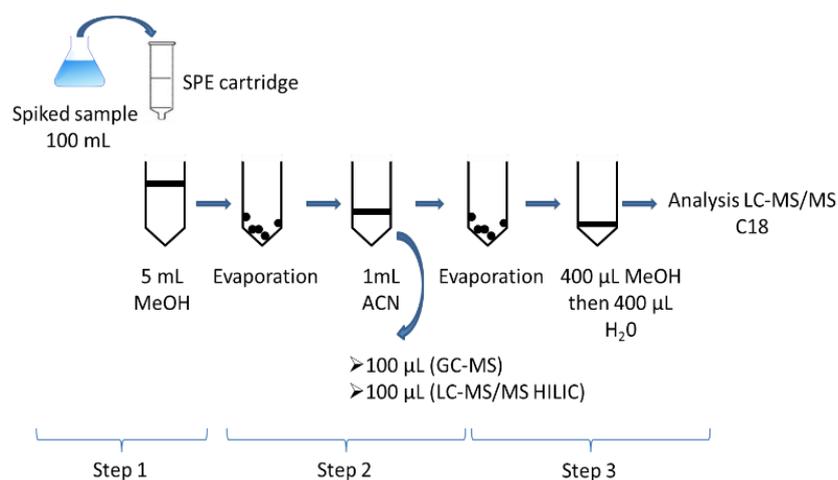


Fig 1 : procedure for the preparation of the sample used for the SPE tests

2.5 Analytical methods

2.5.1 GC-MS

A TRACE GC Ultra gas chromatograph equipped with a Triplus Autosampler (AS mode) (Thermo Fisher Scientific, Autin, USA), was used with a column Rxi[®] 5 MS (60 m; 0.25 mm ID; 0.25 μ m) from Restek (Lisses, France). The injection port temperature was set at 280 °C in splitless mode. Helium was used as carrier gas with a flow rate of 1.2 mL/min. The oven temperature program was 5 min at 50°C, 10 °C/min to 320 °C, then hold for 15 min.

GC was coupled with an MS DSQ II detector (Thermo Fisher Scientific, Austin, USA). The transfer line and ionization source temperature were programmed at 250 °C. Electron ionization (E.I) was used at 70 eV. MS acquisition was by Single Ion Monitoring (SIM): one target ion for quantification and one qualifier ion for confirmation. Xcalibur software (Thermo Fisher Scientific) was used for data acquisition and processing.

2.5.2 RP LC-QqQ

The SPE extracts were analyzed on an Acquity UPLC H-Class from Waters (Milford, MA, USA). Chromatography separation was accomplished, depending on compounds properties, with Kinetex C18, 10 x 2.1 mm, 2.6 μ m from Phenomenex (Torrance, CA, USA). The mobile phase consisted of ammonium acetate buffer 10 mM (solvent A) and MeOH (solvent B). A gradient program was used for elution: 5-100 % B (from 0 to 10 min) and 100 % B (from 10 to 15 min). The mobile phase was delivered at a flow rate of 0.3 mL/min and the injection volume was 5 μ L. The column temperature was set at 40 °C.

The LC was coupled to a triple quadrupole mass spectrometer Acquity UPLC TQ Detector from Waters (Milford, MA, USA). The optimized electrospray ionization condition was: source temperature 150 °C, desolvation temperature 400 °C, capillary voltage \pm 3 kV. Nitrogen was used as nebulizer gas with desolvation gas flow set at 800 L/Hr. Cone voltage set at 22 kV, gas flow set at 50 L/Hr and argon used as collision gas.

The triple quadrupole mass spectrometer was employed under multiple reaction monitoring mode (MRM): one target ion for quantification and one qualifier ion for confirmation (Table S 2). For some substances where the MRM mode could not efficiently be used, the mass spectrometer was operated under single ion monitoring (SIM). Acquisitions were performed in window mode in positive or negative mode depending on the compounds properties. MassLynx software (Waters) was used for data acquisition and processing.

2.5.3 HILIC LC-QqQ

For the polar compounds, the SPE extracts were performed on an Acquity UPLC H-Class from Waters (Milford, MA, USA). Chromatography separation was realized on Ascentis Express HILIC, 150 x 2.1 mm, 2.7 μm from Supelco (Bellefonte, USA). The mobile phase consisted of ammonium acetate buffer 20 mM set at pH=3 with acetic acid (solvent B) and acetonitrile (solvent A). A gradient program was used for elution: 1% B (from 0 to 1 min), 1-60% B (from 1 to 11 min) and 60 % B (from 11 to 12). The mobile phase was delivered at a flow rate of 0.3 mL/min and the injection volume was 5 μL . The column temperature was set at 40 $^{\circ}\text{C}$.

The same instrument and MS parameters as for RP LC-QqQ experiments were used.

2.6 Method performances

2.6.1 Recoveries

To calculate the recoveries for the extraction, the areas obtained for the spiked samples were compared with the areas blank samples of the same matrix extracted with the SPE procedure and then spiked after extraction.

2.6.2 Matrix effects

Preliminary tests were performed on a simple matrix, MilliQ water as to assess without matrix interferences the interactions of the various phases with the model compounds. Matrix effects were evaluated on both cartridges using a source and a river water. These two types of water were selected to provide an ions rich matrix (Evian water) and one representative of natural surface water with organic matter matrix (Oise river). Both matrices were first tested without spiking which demonstrated the investigated compounds were not present.

2.6.3 Repeatability and robustness

All extractions were performed in triplicate. Standard deviations were used to assess the repeatability and robustness of tested SPE methods.

3. Results

3.1 Recovery on individual cartridges

3.1.1 Oasis HLB

3.1.1.1 pH not adjusted

When the pH was not adjusted, about 44% of the compounds were extracted by the Oasis HLB with recoveries from 80% to 100 % and 20 % with recoveries from 50 to 80 %. 26 % presented recoveries below 50% whereas 6 % were not extracted (Fig S 2). For the compounds analyzed in GC, the elution solvent (MeOH) was not strong enough to elute efficiently some compounds such as benzo(a)pyrene. Acenaphthene was not detected since it was lost during the solvent evaporation step. This compound is volatile which highlights that special cares must be taken into account to integrate volatile or semi-volatile compounds in the workflow. As mentioned previously, to efficiently analyze this compound, a supplementary headspace extracting step would be required. For the most polar compounds analyzed in HILIC, this phase and/or the pH of the sample were not adapted and they were not therefore recovered. When the pH was not adjusted, some others compounds such as trichlorfon or diflufenican were also ionized which decreased the hydrophobic interactions with the HLB phase and resulted to no or low recoveries.

3.1.1.2 pH adjusted at 3

Overall, all compounds were extracted. 53 % were recovered between 80 to 120 % and 18 % between 50 and 80 %. 28 % of molecules were recovered below 50 %. Setting an acid pH improved the extraction of some polar compounds with acid groups such as acetylsalicylic acid or dicamba (in neutral form at this pH). Some compounds like lincomycin were ionized at this pH reducing the interaction with the HLB support and its recovery at 12 % (compared to 100 % at unadjusted pH). Erythromycin was not detected since this compounds degrades in acidic conditions (Seifrtová et al. 2009; Dinh et al. 2011).

Overall, Oasis HLB was determined as a generalist sorbent which is suited for the extraction of a wide range of environmental pollutants (from polar to apolar compounds) for compounds mostly with a $\log D > 0$ (Fig 2). However, as also reported in the literature, for the very polar compounds, this support is not adapted to retain ionic compounds (Nurmi & Pellinen 2011; Senta et al. 2015).

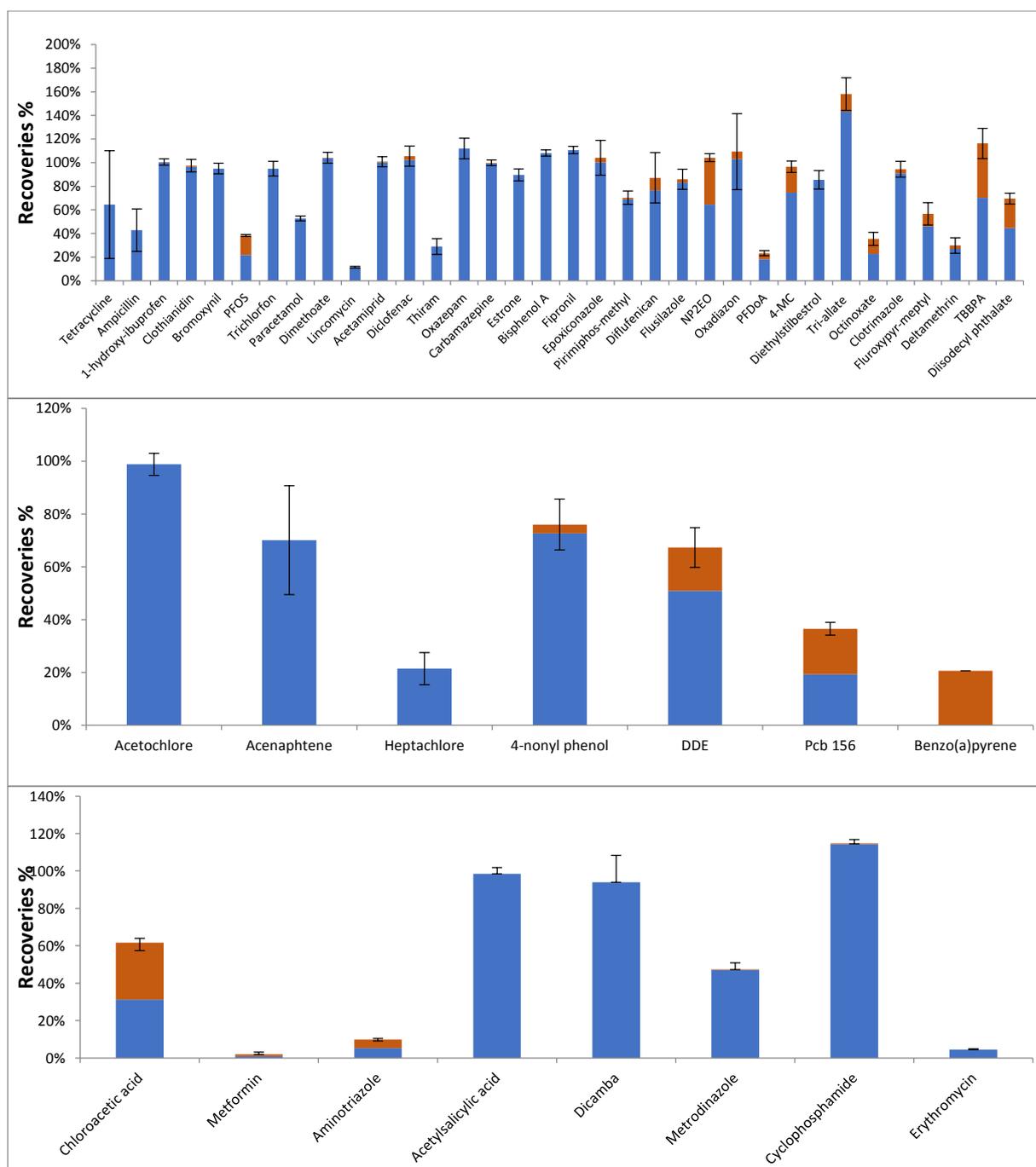


Fig 2 : Recoveries for the extraction of the selected compounds with the cartridges Oasis HLB (pH=3) for the molecules analyzed in LC-C18 (up), in GC-MS (middle) and in LC-HILIC (bottom). The first elution with 5 mL MeOH is in blue and the second elution with 5 mL MeOH is in orange.

3.1.2 Mix mode phases

As all components could not be recovered with the HLB phase, other types of retentions mechanisms such as mix mode phases with ionic groups were investigated. For the purpose of comparing with the Oasis HLB sorbent tested previously, Oasis Mixed mode cartridges were used as these sorbents included an identical hydrophobic part as the HLB phase.

3.1.2.1 Cationic phases

3.1.2.1.1 Mixed-mode Cation eXchange (MCX)

Mixed mode cation exchange phases can be used to retain basic analytes (Baker and Kasprzyk-Hordern 2011). This sorbent has a divinylbenzene-N-vinylpyrrolidone body with the addition of a sulfonic basic (SO_3^-) group. This cartridge therefore possesses two retention mechanisms (cation exchange and reverse phase). Operated at acidic pH, basic molecules are charged and can be extracted by the cation exchange phase while anionic analytes are in neutral forms. Therefore, the pH was set at 3 for the extraction with this phase.

Two elutions were performed: 5 mL MeOH for the first one then 5 mL MeOH + 5 % NH_4OH for the second one. The use of a basic solution allowed to deprotonate the ionic extracted molecules. The second elution improved the elution for the 20 % of compounds retained by ionic interactions. For example, all of aminotriazole or metrodianazole were eluted in the second fraction with a solvent containing NH_4OH .

Compared to the Oasis HLB phases, the extraction was overall better mostly with the improved recoveries of basic compounds due to the ionic interactions. Around 40% of the selected compounds were extracted with recoveries ranging between 80 and 100 % (e.g: clotrimazole, oxazepam, fipronil ...), 20 % between 50 to 80% and 36 % below 50 %.

Fig S 3 shows this sorbent is also suited to extract most of the polar compounds selected. At pH=3, the molecules charged positively (e.g: lincomycin) are retained via cation exchange, while neutral or acidic compounds (e.g: diclofenac) display hydrophobic interactions. As the pH=3, erythromycin was not detected and acenaphtene was lost during the evaporation step. For metformin, the cartridge is not perfectly suited. This molecule has a relatively strong basic group so the solvent MeOH + 5 % NH_4OH was not sufficiently strong to recover this compound from the sorbent phase. Ampicillin, fluoroxypyr-meptyl and deltamethrin presented also low recoveries (between 2 and 20 %).

3.1.2.1.1 Weak Cation eXchange (WCX)

Basic analytes, especially strong bases (Wang et al. 2016) (e.g. quaternary amines) can be extracted using weak anion exchange mechanism (e.g Oasis WCX). In order to maintain the

SPE phase in anionic state, it is necessary to use basic or neutral pH. For this study, the pH of the sample was not adjusted.

5 mL MeOH were employed for a first elution then an acidic elution with 5 mL MeOH + 5 % HCOOH were used. Use of an acidic solution could protonate anionic molecules to release them from the cationic cartridge.

Some semi-polar compounds like lincomycin, thiram or dicamba were not extracted (Fig S 4). For 1-hydroxy-ibuprofen or trichlorfon, the recoveries were lower than the extraction with the HLB cartridge (respectively 49 % and 32 % with the Oasis WCX against 100 % for the Oasis HLB). The mixed mode mechanism of this cartridge seems to temper the hydrophobic part of the cartridge leading to lower recoveries as observed with an HLB “only” sorbent. Only metformin, with a recovery of 98% could be better retained with the WCX compared to the other phases. As reported in the literature (Fontanals et al. 2013), this indicates this phase is very suited for the extraction of strong amines and should be used with such aim but is too specific for multi-residue analysis purpose.

3.1.2.2 Anionic phases

3.1.2.2.1 Mixed-mode Anion eXchange (MAX)

Mixed-mode anion exchange (e.g. Oasis MAX) is suited to retain acidic analytes. This cartridge possesses two retention mechanisms (anion exchange and reverse phase). The pH is set at basic or intermediate level to obtain charged acidic molecules and favor anion exchange extraction with the ionic phase. Neutral contaminants are extracted via the hydrophobic parts of the sorbent.

Two elutions were carried out with 5 mL MeOH followed by 5 mL MeOH + 5 % HCOOH. The acidic second elution was aimed to recover the ionized molecules retained by the ion exchange phase.

This phase did not provide any significant improvement in term of recovery compared to the other tested cartridges (HLB or mix modes). For example, only 5 % of metformin was extracted. The recoveries were lower for some compounds such as PFoA or dicamba (below 20 %) (Fig S 5).

Lincomycin or aminotriazole were efficiently retained by the MCX phase (~100 %) but both contaminants were lowly extracted with the MAX phase with 4 % for lincomycin and 8 % for aminotriazole.

3.1.2.2.1 Weak Anion eXchange (WAX)

This type of phase is particularly used to retain strong acidic analytes like perfluorated compounds (Munoz et al. 2015). Neutral or acidic pH are set to take advantage of the cationic nature of the SPE phase. The sample at pH =3 adjusted with HCOOH was used in this work.

5 mL MeOH were employed for the first elution followed by 5 mL MeOH + 5 % NH₄OH for the second one. The elution with a basic solution leads to deprotonate the cationic part of the sorbent thereby improving the release of the trapped analytes.

The tested perfluorinated compounds (e.g.: PFOS or PFDoA) were efficiently retained with this cartridge (Fig S 6). A better recovery was obtained for ampicillin (80 % for the WAX cartridge compared to around 40 % for the other cartridges). These compounds are strong acidic compounds. Consequently, they are always deprotonated regardless of the pH. Apart for this type of compounds, this cartridge did not provide better recoveries compared to the other tested in this work.

3.2 Recovery on stacked cartridge

As highlighted by the test performed in the first part, most of environmental compounds are retained by Oasis HLB at pH=3 (semi polar and non-polar, some acids). As a consequence, this cartridge has been chosen as first material. Secondly, only the MCX and WAX phases are suitable to be operated at pH=3. Some compounds such as aminotriazole, metrodinazole (polar compounds), pyrimiphos-methyl, clotrimazole or NPE2O (semi polar compounds) displayed better recoveries with Oasis MCX while other substances like lincomycin were exclusively extracted with MCX and not with the HLB or the WAX phase at pH=3. Consequently, the Oasis MCX phase was used as second material. In contrary to the Nurmi & Pellinen 2011 approach, the reverse phase cartridge (Oasis HLB) was chosen as first material in order to retain the maximum of compounds and a mixed-mode cation exchange (Oasis

MCX) was selected as second material to hold molecules which are not retained by the reverse phase.

Four elutions were successively employed: 2 * (5 mL MeOH) then 2 * (5 mL MeOH + 5 %NH₄OH). The first two were to test the elution with solvent only while the two lasts were aimed to recover ionic substances.

Fig 3 shows that using this combination (Oasis HLB + MCX), nearly all compounds could be extracted from low level to complete recoveries. Around 63 % of compounds presented recoveries between 80 to 100% and 30 % of contaminants above 50%. All pollutants were extracted except one. Erythromycin was the only substances of the list which was not determined as the pH 3 degraded it. Nevertheless, recoveries of some compounds such as ampicillin, PFDoA or metformin were low (between 5 and 20 %). As shown in the first part, either the sorbents or the pH were not optimal for these molecules. The complementary nature of these cartridges at pH=3 could be demonstrated since, for example, aminotriazole or lincomycin were not extracted with the Oasis HLB alone. Also, metrodinazole was extracted with low recoveries with use of a single HLB cartridge (48%) whereas with the MCX cartridge the recovery is high (100%). In this case, the association of both cartridges led to better recoveries (~100%).

If 4 elutions were used in order to check if all compounds are eluted, the obtained results demonstrated that only 2 elutions (5 mL MeOH then 5 mL MeOH + 5 % NH₄OH) were necessary. Indeed, some compounds were entirely recovered after the first elution of MeOH (e.g.: acetamidrid or trichlorfon) whereas the second elution of MeOH did not provide any significant gain. Ionic molecules were almost completely recovered with a 5 mL of buffered MeOH (e.g.: lincomycin or fluzilazole).

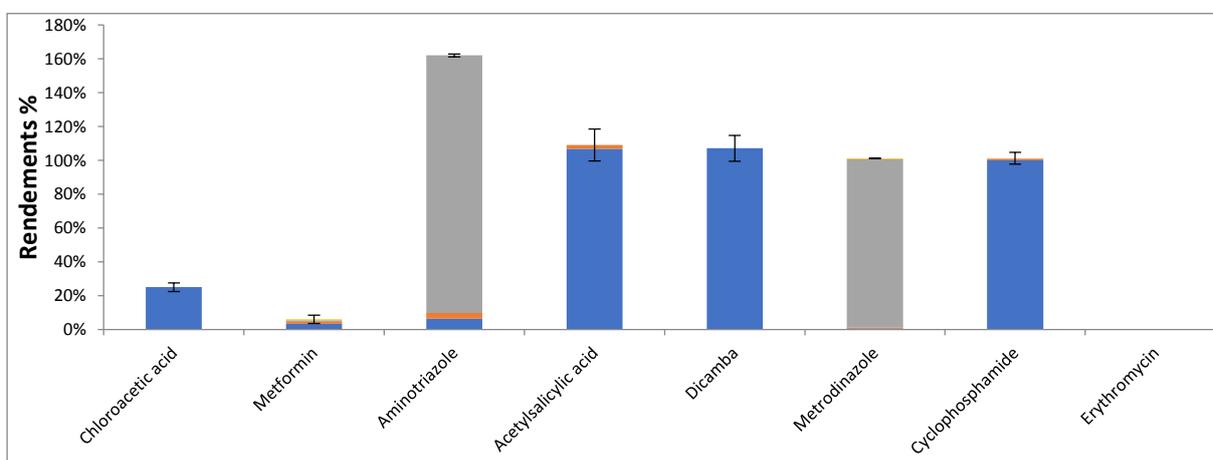
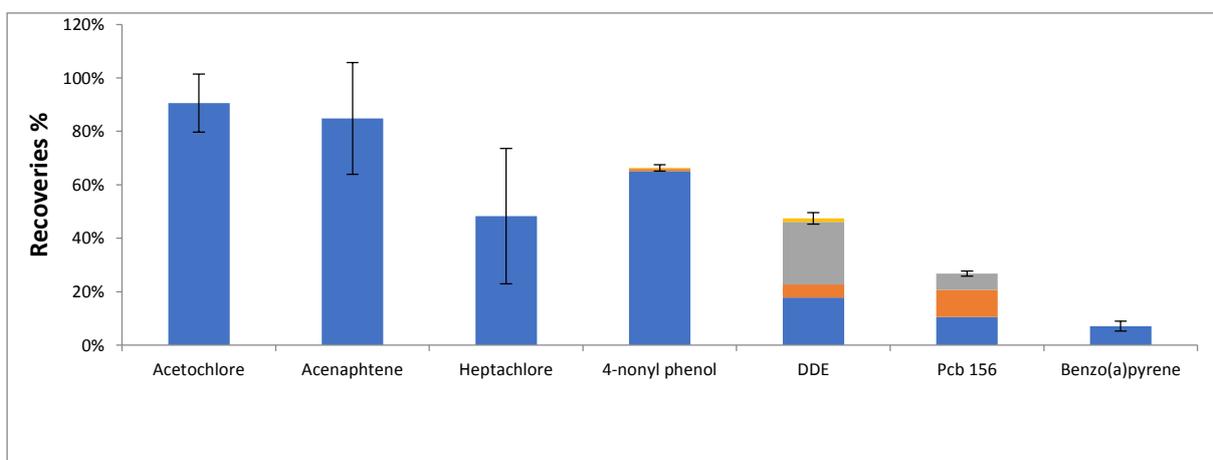
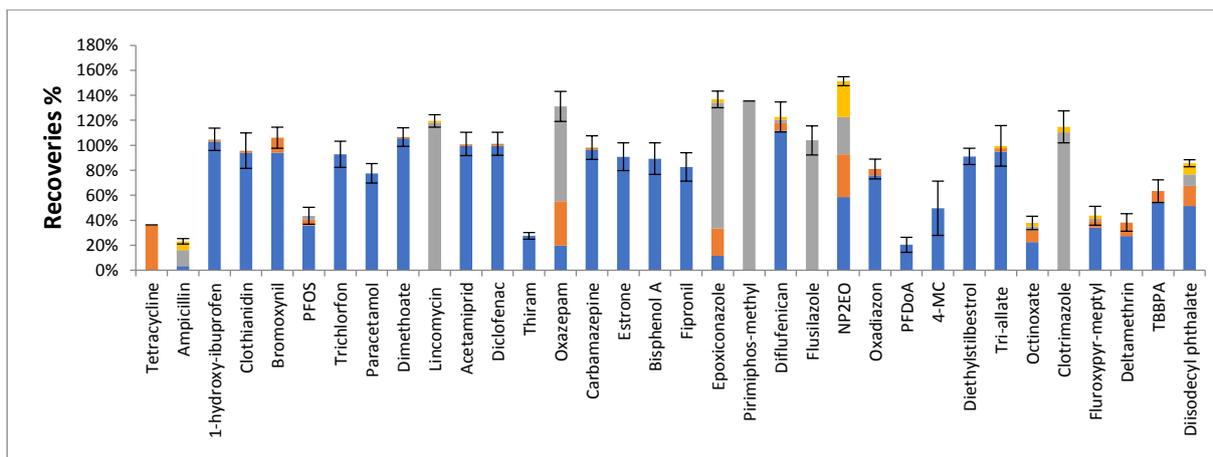


Fig 3 : Recoveries for the extraction of the selected compounds with the cartridges Oasis HLB + MCX (pH=3) for the molecules analyzed in LC-C18 (up), in GC-MS (middle) and in LC-HILIC (bottom). The first elution with 5 mL MeOH is in blue, the second elution with 5 mL MeOH is in orange, the third elution with 5 mL MeOH + 5 % NH₄OH is in grey and the last elution with 5 mL MeOH + 5 % NH₄OH in yellow.

3.3 Recovery on homemade multilayer cartridge

To improve the extraction and/or recovery of all compounds in one single step, a multilayer cartridge has been tested.

This multilayer cartridge was first described in Kern et al. 2009. In this paper, it was originally composed with a top layer of Oasis HLB (200 mg) and bottom layer of a mixture (350 mg) of Strata -X-AW/Strata -X-CW/ Isolute ENV + (100/100/150g) for a sample volume of 500 mL. In this work and as the sample volume tested was at 100 mL, the phase quantities were reduced proportionally by a 3.3 factor in order to compare with the precedent development.

To obtain the best performance with this cartridge, the sample must be adjusted at neutral pH. The first HLB layer is designated to extract most of the compounds while the mix bed aims to retain all polar compounds by ion exchange, acid and basic groups being theoretically mostly ionized at neutral pH. The pH sample extraction was set at 6.7. In these conditions, after the trapping phase, the elution was proceeded with an acid solution (to elute basic compounds) and a basic solution (for acids). Therefore, two elutions were used: 4 mL MeOH/ethyl acetate + 2 %NH₄OH then 2 mL MeOH/ethyl acetate + 1.7 % HCOOH.

Fig 4 shows that all considered compounds were extracted with the multilayer cartridge demonstrating the complementary nature of the selected SPE phases. Overall, 50 % of the selected contaminants had recoveries between 80 and 120 % and 35 % between 50 and 80. 16 % were extracted with a recovery below 50 %. However, limitations were noticed with the use of this multilayer cartridge. The pH of the sample is not optimal for the extraction of trichlorfon (26 %) or aminotriazole (12%) as these compounds were totally extracted with the stacked cartridges. However, the experimental condition used (at neutral pH) is suitable for the extraction of the erythromycin (this compound has not been extracted with the stacked cartridge due to degradation effect with this acid pH). The use of a multilayer cartridge improved also the extraction notably for chloroacetic acid, metformin ampicillin, PFOS, thiram, PFDoA with recoveries ranging between 60 and 100%.

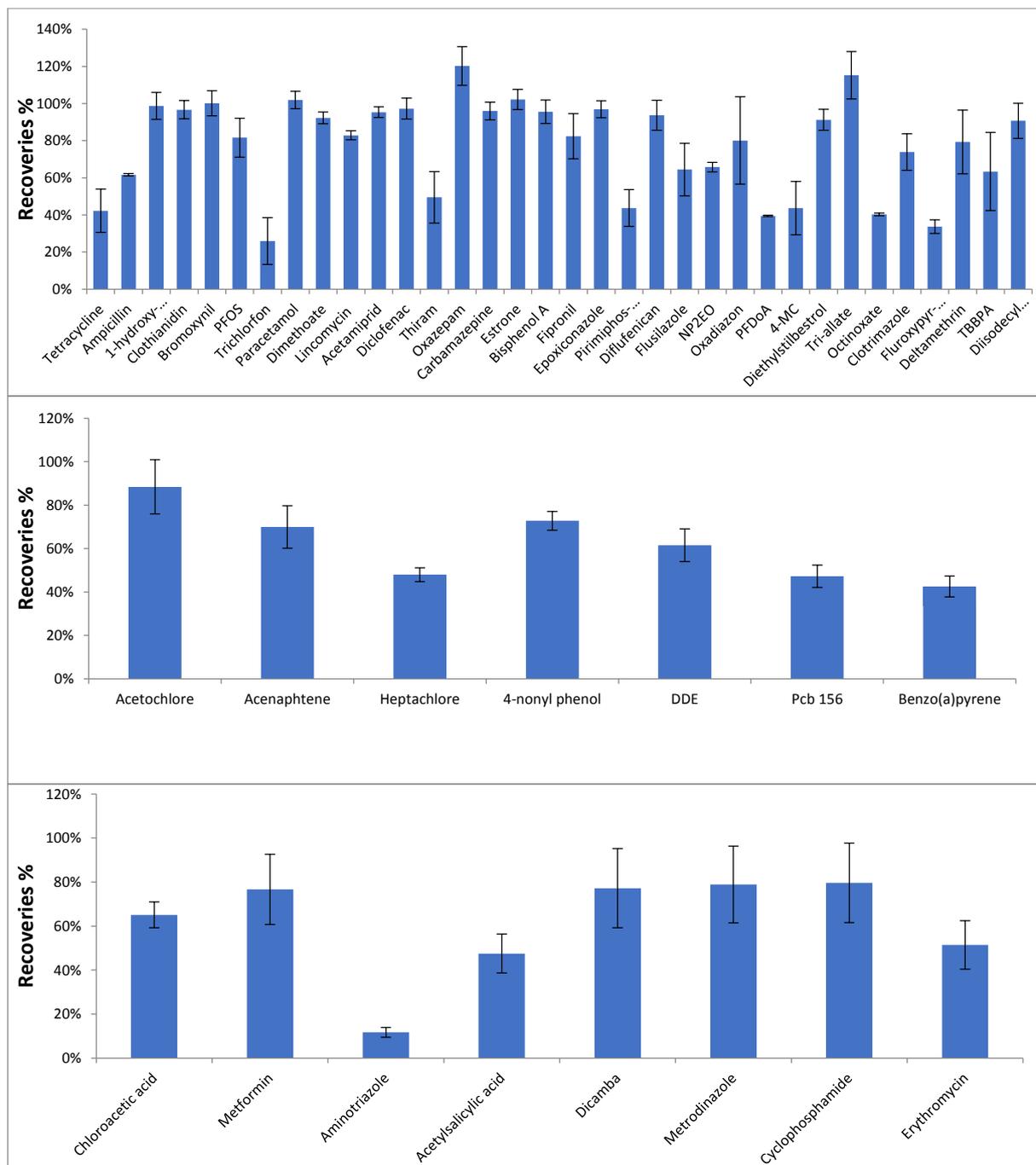


Fig 4 : Recoveries for the extraction of the selected compounds with the multilayer cartridges (pH=6.7) for the molecules analyzed in LC-C18 (up), in GC-MS (middle) and in LC-HILIC (bottom). The first elution with 4 mL MeOH/ethyle acetate (1/1) + 2% NH₄OH then 2 mL MeOH/ethyle acetate (1/1) + 1,7 % HCOOH.

3.4 Summary of performances obtained for the tested cartridges

Oasis HLB at pH=3 performed better than at neutral pH particularly for acid containing pollutants. The recoveries obtained in this case demonstrated that ~70 % of tested compounds presented recoveries higher than 60 %. However, the HLB is clearly limited to extract very polar compounds like metformin (log D < 0). In this case, specific cartridges with ionic retention have to be used. Only the MCX phase allows to retain 100 % for compounds

containing basic group such as aminotriazole. This phase is complementary to the HLB because some compounds like metrodinazole, weakly extracted with the HLB phase (60 %), had improved recovery with the MCX (100 %). Nevertheless, metformin was exclusively extracted with the Oasis WCX. Oasis WAX constitutes also an improvement compared to the HLB for compounds possessing acid group such as ampicillin or perfluorinated substances.

Different strategies using multiple phases, either with stacked cartridge or multilayer cartridge were therefore also considered.

The stacked cartridge extracted 63 % of compounds with a recovery over 80 %. Despite using a reverse combination (MCX then Strata-X), the recoveries reported in the literature for the similar compounds tested (Nurmi and Pellinen 2011) showed comparable level (< 10 % differences).

For the multilayer cartridge, 50 % of the selected contaminants had recoveries over 80 %. Overall, in contrary to the stacked cartridge, all compounds were extracted with the lowest recovery at 12 % (aminotriazole). As reported in the literature, this cartridge appears suited for multiresidue analysis and non-target screening (Schymanski et al. 2014). Thus, from a qualitative point of view, this cartridge offers a good performance.

From these results, the multilayer cartridge was selected for further experiments and compared with the Oasis HLB extracted at sample pH =3 used as reference.

3.5 Performance on homemade multilayer cartridge and Oasis HLB for the extraction of polar compounds

Results shown that Oasis HLB cartridge is sufficient to extract a wide range of environmental pollutants: 49/49 of the tested contaminants in the milliQ water. However, to extract very polar compounds ($\log D < 0$), this phase displayed limited capabilities. To evaluate the performance of the extraction (especially for very polar compounds), other contaminants representing a larger range of polar properties were tested on both multilayer and HLB phases. 20 polar pollutants were added including 13 pesticides commonly determined in natural waters with 4 metabolites (e.g.: metazachlor ESA, metolachlor OXA, metolachlor ESA or atrazine-2-hydroxy), 5 pharmaceutical products (all with acidic function), PFOA and sucralose.

In milliQ water, all compounds were extracted with both cartridges. Indeed, when the extraction was performed at pH=3 with the oasis HLB, most of the compounds with acid groups were in neutral form. For example, metolachlor OXA, a component including an acid group, presents a log D =2.32 at pH=3 as the acidic group is protonated improving hydrophobic interactions with the HLB phase. At pH=6.7, this molecule with a log D=-0.48 is too polar to obtain an efficient retention on this phase. Thereby, a cartridge with an ionic interaction such as the multilayer phase with anion exchange groups was more efficient. Fig 5 shows that with both cartridges presented recoveries of ~100% for this compound.

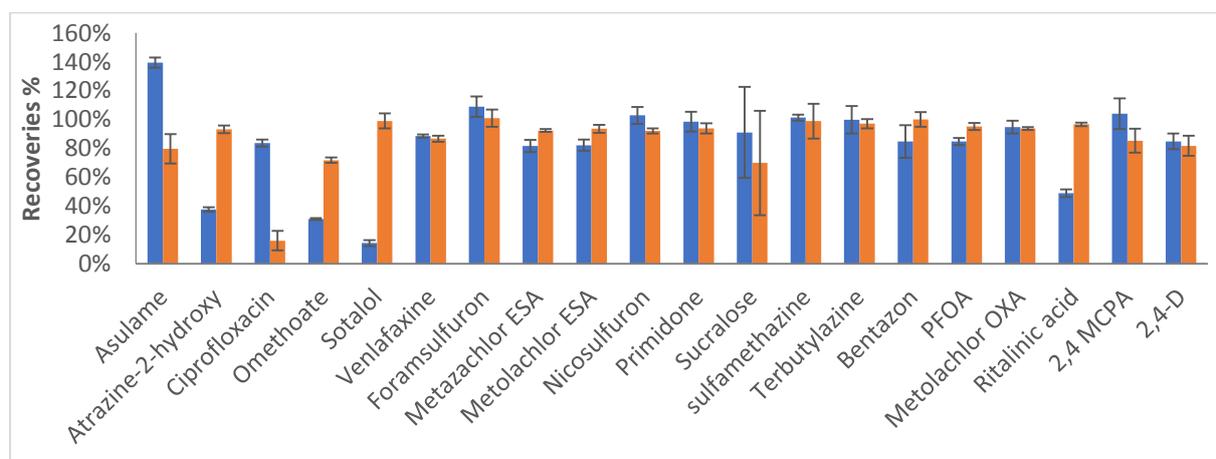


Fig 5 : Recoveries for the extraction of the selected polar compounds with the cartridges Oasis HLB (blue) and multilayer (orange) in the milliQ water.

However, this trend is not observed for all compounds. For the basic compounds like sotalol or atrazine-2-hydroxy, the use of the Oasis HLB at pH=3 is not efficient because the basic group is ionized. At pH=6.7, atrazine-2-hydroxy is totally ionized (log D = -2.85). Thereby, a cartridge with the ionic interaction like the multilayer support was very efficient. The result is in accordance with previous studies with the Oasis HLB (Carabias-Martinez et al. 2002), a recovery of 40 % was obtained whereas it was completely extracted with the multilayer cartridge.

To conclude, results show that for the molecules which possess a basic group, at pH=3, the retention mechanisms with a reverse phase sorbent like Oasis HLB are not optimal. Use of an ionic support is much suited for such molecules. On contrary, for pollutants which have acidic groups, a reverse phase support is better, even if the multilayer cartridge is partly composed of an HLB phase. For molecules including both acidic and basic groups such as ritalinic acid, the use of each cartridge at optimum pH (3 for the HLB and 6.7 for the

multilayer cartridge) allow to produce interactions with the SPE support of all or most of the part of this molecule. Indeed, the extraction of ritalinic acid using the Oasis HLB led to a recovery of 60 %. Its pKa is 3.73, so 85% of the acidic group is protonated at the set pH=3. Moreover, the basic group is also ionized at this pH. With the multilayer cartridge, a total recovery is obtained as the molecule is fully ionized at pH=6.7.

The retention is also dependent on the influence of the hydrophobic part of these polar molecules (if the molecule is composed of an aromatic cycle or linear chain for instance). For example, 2-4 MCPA is ionized at pH=6.7 but contains an aromatic cycle. Thus, when it is extracted with the multilayer cartridge (80 %), the aromatic cycle provides a good interaction with the HLB part present in this cartridge, but also with the ionic phases. With the HLB support, at pH=3, the compound is totally protonated improving the efficiency of the extraction (100%).

Overall, 80 % of the tested polar pollutants were extracted by the Oasis HLB with more than 80 % recoveries and 95 % recoveries for the multilayer cartridge. The recoveries of this study are in accordance with those observed in the literature for the Oasis HLB (e.g.: nicosulfuron, terbutylazine, formasulfuron bentazon (Gervais et al. 2008)). For several compounds, the multilayer cartridges improved the extraction recoveries by about 40-50 % (from 50 % to 100% for ritalinic acid and from 30 to 70% for omethoate). For sotalol, a larger difference was noticed with only 20% of recovery for the HLB phase compared to 100 % with the multilayer cartridge. Baranowska & Kowalski 2009 extracted sotalol with 93 % recovery but the HLB SPE contained a larger quantity of phase (500 mg) and the pH was set at 7. Ciprofloxacin was the only molecule which displayed a better extraction with the Oasis HLB (100% compared to 20% with the multilayer cartridge). As for tetracycline, this molecule can form complex with metal ions (Liang et al. 2016). To analyze this molecule, a specific method using EDTA addition should be employed. Moreover, at pH=3, the acid group of ciprofloxacin is protonated whereas the basic group is on ionic form. At pH=6.7, both groups are ionized so the retention with the reverse phase is better at pH=3.

3.6 Comparison of the SPE methods

3.6.1 Summary of performance

For the experiments with all contaminants in milliQ water, 60 % of compounds were extracted with a recovery above 80% with the Oasis HLB at pH = 3 and the multilayer cartridge at pH = 6.7. However, 26 % and 20 % were extracted with a recovery under 50 % when the Oasis HLB and the multilayer were respectively employed. To conclude, the multilayer improves the extraction compared to the Oasis HLB in milliQ water.

3.6.2 Matrix effect

Matrix effects were investigated by extracting the model compounds with an ionic rich matrix (source water) and an organic rich matrix (river water).

3.6.2.1 Source water

The same recovery and trends were obtained with both cartridges with about 53 % of selected compounds extracted with more than 80 % recovery.

30 % of selected contaminants presented matrix effects with a decrease of the recoveries. For 55 % of the compounds extracted with the Oasis HLB phase, no matrix effect was observed with the same recoveries (+/- 10 %) obtained in the milliQ and the source water (Fig S 7 et Fig S 8). However, for the most polar compounds, aminotriazole and chloroacetic acid, no extraction was obtained. 10 % of molecules had better recoveries in the source water compared to the milliQ water.

For the multilayer cartridges, 26% of the contaminants had a lower recovery but for 17 %, an increase was noticed. For 53 %, no matrix effect was observed. With the multilayer cartridge, matrix effects were more pronounced with the semi-polar to apolar analytes. For instance, tetracycline and ciprofloxacin were not extracted in the source water. For complex matrix, EDTA can be used to prevent very polar compound to form a chelation complex with metallic ions (Anderson et al. 2005). Compared to the HLB phase, aminotriazole and monochloroacetic acid were extracted with the multilayer cartridge. Nevertheless, matrix effects were observed mostly for all the most polar compounds with recoveries lower compared to extraction in milliQ water. The recovery of metformin was at 80 % in the milliQ water but down to 33% in the source water. Ritalinic acid, foramsulfuron or nicosulfuron presented between 20 and 40 % recoveries. When these compounds were extracted with the Oasis HLB phase, recoveries were ranging between 60% and 100%.

Matrix effects were correlated to the nature of the phase as the multilayers cartridge provided to retain more compound but also to suffer for more competition for sorption from the matrix interferences.

3.6.2.2 River water

For 43 % of selected contaminants, their recoveries were over 80 % when they were extracted with both cartridges. For the Oasis HLB, no matrix effects were observed in 60 % of cases. The extraction of 20% of substances (e.g.: lincomycin, PFOS, octinoxate, deltamethrin, heptachlor and benzo(a)pyrene) in river water yielded better recoveries compared to an extraction in milliQ water. For example, the recovery of lincomycin was 19 % in milliQ water but 33% in river water. Aminotriazole, thiram, metformin, chloroacetic acid and ciprofloxacin were not detected in the river water in spiked post SPE extract due to matrix effect on the signal. For 11 % of selected contaminants, recoveries decreased (Fig 6 et Figure S 9).

With the multilayer support, tetracycline, chloroacetic acid, aminotriazole, thiram and ciprofloxacin were also not extracted. Furthermore, recoveries decreased between 10 and 80 % for about 20 % of tested compounds (e.g: 48 % in the pure water against 12 % in the river water for acetylsalicylic acid). However, the recoveries increased for 23 % of the compounds (e.g: 50 % in the milliQ water against 100 % in the river water for erythromycin). No matrix effects were observed for ~50 % of the compounds with recoveries within +/- 10% compared to milliQ water.

Overall, in the river water, chloroacetic acid and aminotriazole were not extracted for both cartridges. Matrix effects were observed mostly for the polar compounds. It can be assumed complex matrix such as river water contains polar components in large quantities which can interfere and compete with the polar micro pollutants for ionic interactions and prevent them to be efficiently trapped onto these sorbents.

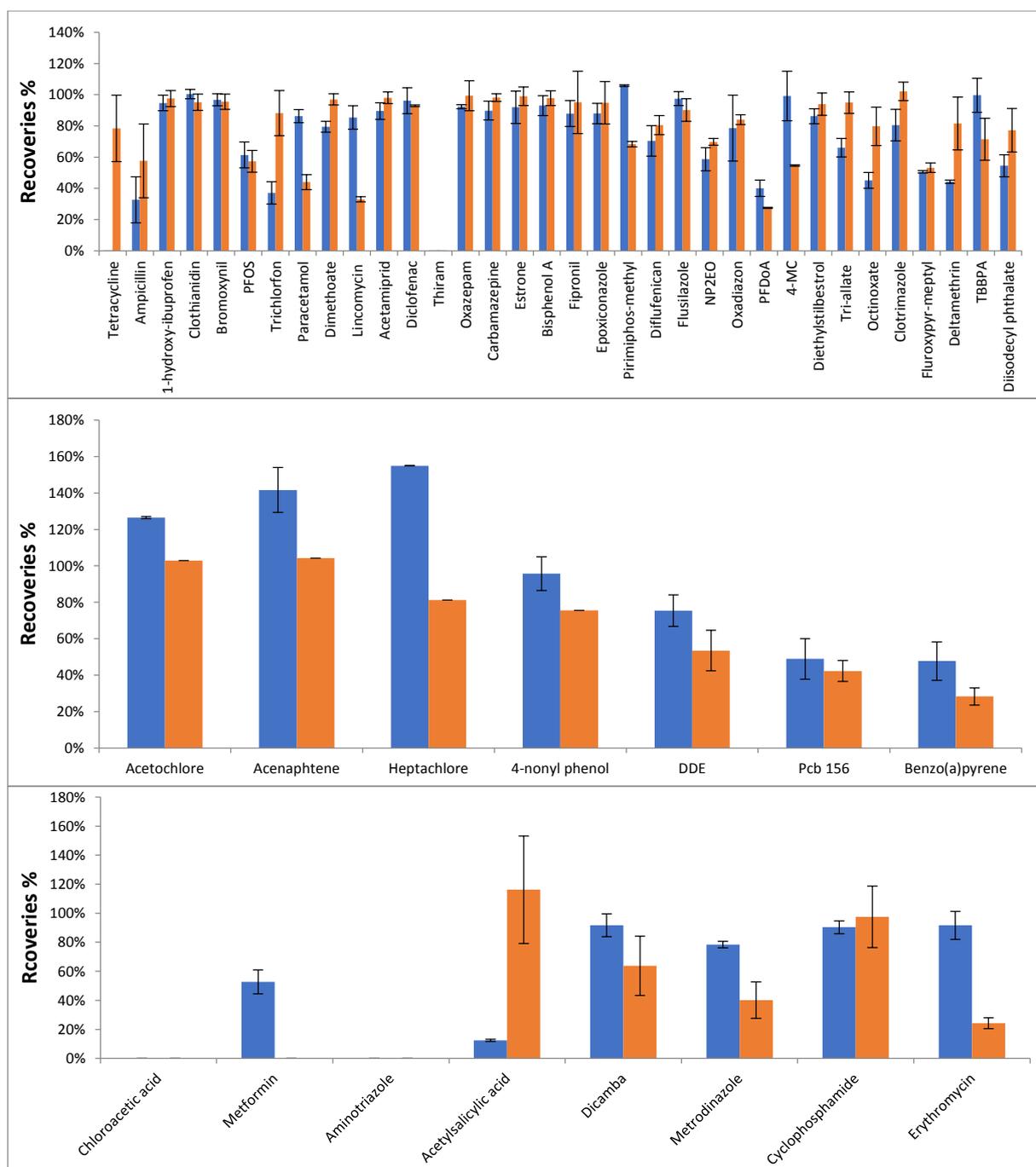


Fig 6 : Extraction recoveries of selected compounds for the molecules analyzed in LC-C18 (up), in GC-MS (middle) and in LC-HILIC (bottom). Contaminants were spiked in river water (Oise) with the multilayer (blue) and HLB (orange) cartridges.

3.7 Repeatability and robustness

In this work, all extractions followed by analysis in LC-QqQ or GC/MS were performed in triplicate in order to evaluate the repeatability in various tested conditions. In milliQ water, for substances extracted with the commercial Oasis HLB cartridges (at pH=3), their standards deviations were relatively low (from 2 % to 15 %) excepted for oxadiazon (32%), tetracycline

(46%), ampicillin (18%) and sucralose (36 %). As explained previously, this support was not adapted for polar compounds as these last two substances. With sorbents which offer ionic interactions like MCX, MAX, WAX or WCX, overall, standard deviations were improved (~5%). For polar compounds which were analyzed in HILIC, standard deviations were acceptable (<15 %) when these molecules were respectively extracted with ionic supports.

With the homemade cartridges (multilayer and stacked cartridge), standard deviations are worse mostly for very polar compounds. For example, standard deviation of metformin was at 1 % when it was extracted with the Oasis WCX whereas at 16 % when extracted with the multilayer cartridge.

For compounds analyzed in GC-MS, the repeatability displays more variability because, during the solvent concentration step, some of these compounds were partially lost by evaporation. The worst standard deviations were obtained for the most volatile substances (e.g.: acenaphthene presented a high standard deviation (more than 20 %) when it was extracted with an oasis HLB at pH=3).

No significant differences were observed due to matrix effects with the repeatability obtained with the commercial or homemade cartridge. As example, standard deviation of dicamba was respectively of 14%, 6% and 20% when it was extracted with an Oasis HLB support in milliQ, source and river water. With the multilayer cartridge, the extraction in these 3 matrices yielded respective performances of 18%, 9% and 8 %.

3.8 Discussion

The tests of individual phases with different properties (HLB, strong and weak cation and anion) showed that none can simultaneously provide excellent recoveries for the extraction of a large range of environmental contaminant. The ionic cartridges display good performances for specific target analysis regarding ionic component (Munoz et al. 2015; Villaverde-De-Sáa et al. 2015) but have severe limitations for general screening use. The more suited phase for this purpose is the HLB as determined in this study and reported in the literature for targeted multi-residus analysis (Rodil et al. 2009; Buchberger 2010; Gracia-Lor et al. 2012; Domínguez-Romero et al. 2014) and non-target screening analysis (Ibáñez et al. 2008). However, this support still presented poor performances for the most polar compounds such as metformin or aminotriazole. As reported by the literature, stacked and

multilayer cartridge were employed. The best results were obtained with the multilayer cartridge for extracting all model compounds. To assess the performances of the multilayer and the Oasis HLB cartridges obtained in this study, the results were compared with data extracted from the literature on similar matrices.

No recoveries for the selected contaminants were found in the literature for the multilayer cartridge.

Overall, in this study, the recoveries for all compounds obtained in river water with the Oasis HLB are compared with data reported in the literature (Table S4).

For the Oasis HLB cartridge, recoveries were reported from the literature for 41 model compounds used in this work and compared with the results obtained in this study for the river water. It has to be point out that all these studies were dedicated on the analysis of specific families so the analytical conditions were optimized in this aim. In general, recovery levels obtained for some compound studied in this research were generally in agreement with those in the literature which demonstrated that despite the general screening aim of the developed method and conditions, the HLB and multilayer cartridges provided satisfactory results.

With the method developed in this study, with the Oasis HLB and the multilayer cartridges, recoveries are quite similar (above 80%) than the recoveries reported by Gervais et al. (2008), Fauvelle et al. (2014) or Robles-Molina et al. (2014) for the acidic compounds like 2,4-D or 2,4 MCPA extracted with an HLB phase at acidic conditions.

Standard deviation for these compounds is under 13 % when they were extracted by the Oasis HLB or the multilayer cartridges, and in accordance as reported by the literature (< 13 %) (Gervais et al. 2008; Fauvelle et al. 2014; Robles-Molina et al. 2014). The good repeatabilities obtained for the multilayer cartridge, comparable to commercial packing, demonstrated that homemade cartridges could be correctly packed despite the various phases composing it.

3.8.1 Influence of the pH of the sample

Gómez et al. (2010), Robles-Molina et al. (2014) mentioned the extraction of lincomycin at 70 % at neutral pH (7-8) and with 200 mg of Oasis HLB. In our method, when lincomycin was

extracted by the Oasis HLB, the recovery was very low (33 %) due to the acidic pH (= 3). A recovery of 97% was obtained with a pH non-adjusted on 60 mg Oasis HLB in milliQ water. However, with the multilayer cartridge used at pH = 6.7, 97% recoveries were also obtained in river water, highlighting the advantage to use this phase.

The method developed in this study in river water could recover clotrimazole and tetracycline (with the Oasis HLB only) at a rate above 75% whereas Gómez et al. (2010) reported poor recoveries (< 35 %) using HLB phase with extraction at pH= 8 with 200 mg of HLB phase in wastewater demonstrating the importance of a low samples pH for these compounds.

3.8.2 Matrix effects for the metabolites

For the metabolites metolachlor ESA and OXA, similar performances were also determined for the HLB phase with reported results (Fauvelle et al. 2014; Cruz 2015) (between 90% and 115 %) with better standard deviations determined in this work (2% vs 25%). This trend is also observed for a metabolite of atrazine (atrazine-2-hydroxy) with better recoveries observed in river water using Oasis HLB at pH =3 (91% of recovery) compared to 53 % with Oasis HLB at pH = 2 in waste water as reported in the literature (Cruz 2015). Moreover, the standards deviation were lower also within 7% for both supports against 16 %. The difference in this case could be also attributed to a more complex matrix showing polar metabolite are particularly impacted by this parameter.

3.8.3 The effect of the elution

The nature of the solvents can have an influence on the elution of the contaminants. For the sulfone compounds like foramsulfuron and nicosulfuron (containing a sulfonyl functional group attached with two carbon atoms), the recoveries are better with the HLB methods in the river water used in this work (101 % for foramsulfuron and nicosulfuron when these compounds were extracted in the river water against 76 and 86 % in the literature in the surface water (Gervais et al. 2008)). The difference could be assumed originating from the elution method with 2 * 5 mL of MeOH compared to an elution with 3 mL of a mixture ACN/dichloromethane (1/1). This mixture could possibly be not sufficiently polar to elute these compounds. Other researchers extracted these compounds in waste water from treatment plant (Cruz 2015) and drinking water (Fauvelle et al. 2014) where MeOH has been

used for elution, and they reported similar performances (~100 %). However, when these contaminants are extracted by the multilayer cartridge in the river water, matrix effects were very important, resulting in poor recoveries (< 23 %).

3.8.4 Influence of the quantity of the SPE phase for the polar compounds

With our method, ciprofloxacin was not extracted in river water with both cartridges. Robles-Molina et al. (2014) recovered it with an Oasis HLB with more phase (200 mg) but at a very poor rate (6 %) and a large standard deviation (36 %). Metformin was also recovered at 3 % due to the large quantity of phase. In this work, the multilayer cartridge improved the extraction of metformin (53 %) in this matrix.

4 Conclusion

The HLB, as the most versatile commercial cartridge and the multilayer cartridge for the overall results obtained were determined the most suited for the analysis of a large range of contaminants.

Overall, 69 molecules were extracted in 3 matrices (milliQ, source and river water) with both HLB and multilayer cartridges. At pH=3, in milliQ water, Oasis HLB allows the extraction of all of the model compounds (69/69) with recoveries between 2 % and 100 %. At this pH, this sorbent is suitable for compound with acidic group and mid-polar to apolar properties. For the compounds which are composed with a basic group and limited hydrophobic part, the use of a multilayer cartridge was determined better because the different phases offer several ionic interactions. This support allowed to extract all pollutants with recoveries between 12 and 100 % (15 molecules with a recovery between 10 and 60 % and 54 contaminants above 60 %). For non-polar compounds, the use of a multilayer support is not required and the use of a HLB like phase is sufficient.

However, for more complex water composition, matrix effects were noticed particularly for the most polar compounds. Overall, HLB is suited to extract most of the pollutants even in complex matrix. To obtain a more exhaustive extraction, multilayer cartridge can be used but limitation can still occur for some particular substances in complex matrix.

Finally, on the choice of the sorbent, it has also to be mentioned the time (and cost) to produce a homemade cartridge and the risks represented about the quality of the packing

which could lead to preferential channeling between the different layers compared to acquiring a commercial cartridge like HLB obtained with a certificate about the product acquired.

5 Reference

Anderson CR, Rupp HS, Wu WH. 2005. Complexities in tetracycline analysis - Chemistry, matrix extraction, cleanup, and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1075:23–32.

Baker DR, Kasprzyk-Hordern B. 2011. 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.

Baranowska I, Kowalski B. 2009. The Development of SPE Procedures and an UHPLC Method for the Simultaneous Determination of Ten Drugs in Water Samples. *Water, Air, Soil Pollut.* 211:417–425.

Botta F, Valeria D. 2014. Résultats de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des DOM. Rapport Final, DRC-13-136939-12927A.

Buchberger WW. 2010. Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment. *J. Chromatogr. A* 1218:603–618.

Carabias-Martinez R, Rodriguez-Gonzalo E, Herrero-Hernandez E, Javier Sanchez-San Roman R, Guadalupe Prado Flores M. 2002. Determination of herbicides and metabolites by solid-phase extraction and liquid chromatography Evaluation of pollution due to herbicides in surface and. *J. Chromatogr. A* 950:157–166.

Creusot N, Aït-Aïssa S, Tapie N, Pardon P, Brion F, Sanchez W, Thybaud E, Porcher JM, Budzinski H. 2014. Identification of synthetic steroids in river water downstream from pharmaceutical manufacture discharges based on a bioanalytical approach and passive sampling. *Environ. Sci. Technol.* 48:3649–3657.

Creusot N, Budzinski H, Balaguer P, Kinani S, Porcher JM, Aït-Aïssa S. 2013. Effect-directed analysis of endocrine-disrupting compounds in multi-contaminated sediment: Identification of novel ligands of estrogen and pregnane X receptors. *Anal. Bioanal. Chem.* 405:2553–2566.

Creusot N, Tapie N, Piccini B, Patrick B, Porcher J-M, Budzinski H, Aït-Aïssa S. 2013. Distribution of steroid- and dioxin-like activities between sediments, POCIS and SPMD in a French river subject to mixed pressures. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20:2784–2794.

Cruz JM. 2015. Etude de la contamination par les pesticides des milieux eau, air et sols : développement de nouveaux outils et application à l'estuaire de la Gironde. Manuscrit de thèse. Université de Bordeaux.

Dasenaki ME, Thomaidis NS. 2015. Multianalyte method for the determination of pharmaceuticals in wastewater samples using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 407:4229–4245.

Díaz R, Ibáñez M, Sancho J V., Hernández F. 2012. Target and non-target screening strategies for organic contaminants, residues and illicit substances in food, environmental and human biological samples by UHPLC-QTOF-MS. *Anal. Methods* 4:196–209.

Diaz R, Ibáñez M, Sancho J V, Hernández F. 2013. Qualitative validation of a liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry screening method for organic pollutants in waters. *J. Chromatogr. A* 1276:47–57.

Dinh QT, Alliot F, Moreau-Guigon E, Eurin JJ, Chevreuil M, Labadie P, Tuc Dinh Q, Alliot F, Moreau-Guigon E, Eurin JJ, Chevreuil M, Labadie P. 2011. Measurement of trace levels of antibiotics in river water using on-line enrichment and triple-quadrupole LC-MS/MS. *Talanta* 85:1238–1245.

Domínguez-Romero JC, García-Reyes JF, Molina-Díaz A. 2014. Comparative evaluation of seven different sample treatment approaches for large-scale multiclass sport drug testing in urine by liquid chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1361:34–42.

Fauvelle V, Mazzella N, Morin S, Moreira S, Delest B, Budzinski H. 2014. Hydrophilic interaction liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry for acidic herbicides and metabolites analysis in fresh water. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22:3988–3996.

Fontanals N, Borrull F, Marcé RM. 2013. On-line weak cationic mixed-mode solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-mass spectrometry to determine illicit drugs at low concentration levels from environmental waters. *J. Chromatogr. A* 1286:16–21.

Gervais G, Brosillon S, Laplanche A, Helen C. 2008. Ultra-pressure liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry for multiresidue determination of pesticides in water. *J. Chromatogr. A* 1202:163–172.

Gómez MJ, Gómez-Ramos MM, Malato O, Mezcua M, Fernández-Alba R. 2010. Rapid automated screening, identification and quantification of organic micro-contaminants and their main transformation products in wastewater and river waters using liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry with an accurate-mass. *J. Chromatogr. A* 1217:7038–7054.

Gracia-Lor E, Martínez M, Sancho J V, Peñ Uela G, Lix F, Ndez H. 2012. Multi-class determination of personal care products and pharmaceuticals in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 99:1011–1023.

Huntscha S, Singer HP, McArdell CS, Frank CE, Hollender J. 2012. Multiresidue analysis of 88 polar organic micropollutants in ground, surface and wastewater using online mixed-bed multilayer solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1268:74–83.

Ibáñez M, Sancho J V., Hernández F, McMillan D, Rao R. 2008. Rapid non-target screening of organic pollutants in water by ultraperformance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry. *TrAC Trends Anal. Chem.* 27:481–489.

ISO 17943. 2016. Determination of volatile organic compounds in water -- Method using headspace solid-phase micro-extraction (HS-SPME) followed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Kampioti A a, Borba da Cunha AC, López de Alda M, Barceló D. 2005. Fully automated multianalyte determination of different classes of pesticides, at picogram per litre levels in water, by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 382:1815–1825.

Kern S, Fenner K, Singer HP, Schwarzenbach RP, Hollender J. 2009. Identification of transformation products of organic contaminants in natural waters by computer-aided prediction and high-resolution mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 43:7039–7046.

Liang N, Huang P, Hou X, Li Z, Tao L, Zhao L. 2016. Solid-phase extraction in combination with dispersive liquid-liquid microextraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis: the ultra-trace determination of 10 antibiotics in water samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 408:1701–1713.

Loos R, Locoro G, Comero S, Contini S, Schwesig D, Werres F, Balsaa P, Gans O, Weiss S, Blaha L, Bolchi M, Gawlik BM. 2010. Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Res.* 44:4115–26.

Moschet C, Lew BM, Hasenbein S, Anumol T, Young TM. 2017. LC- and GC-QTOF-MS as Complementary Tools for a Comprehensive Micropollutant Analysis in Aquatic Systems. *Environ. Sci. Technol.* 51:1553–1561.

Munoz G, Giraudel JL, Botta F, Lestremau F, Devier M-H, Budzinski H, Labadie P. 2015. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: A French nationwide survey. *Sci. Total Environ.* 517:48–56.

Nödler K, Licha T, Bester K, Sauter M. 2010. Development of a multi-residue analytical method, based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry, for the simultaneous determination of 46 micro-contaminants in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 1217:6511–6521.

Nurmi J, Pellinen J. 2011. Multiresidue method for the analysis of emerging contaminants in wastewater by ultra performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1218:6712–6719.

Pelajic M, Pecek G, Mutavdzic Pavloviic D, Vitali Cepo D. 2016. Novel multiresidue method for determination of pesticides in red wine using gas chromatography-mass spectrometry and solid phase extraction. *Food Chem.* 200:98–106.

Pitarch E, Cervera MI, Portolés T, Ibàñez M, Barreda M, Renau-Prunonosa A, Morell I, Lopez F, Albarràn F, Hernández F. 2016. Comprehensive monitoring of organic micro-pollutants in surface and groundwater in the surrounding of a solid-waste treatment plant of Castellón, Spain. *Sci. Total Environ.* 548–549:211–220.

Robles-Molina J, Lara-Ortega FJ, Gilbert-López B, García-Reyes JF, Molina-Díaz A. 2014. Multi-residue method for the determination of over 400 priority and emerging pollutants in water and wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1350:30–43.

Rodil R, Quintana JB, López-Mahía P, Muniategui-Lorenzo S, Prada-Rodríguez D. 2009. Multi-residue analytical method for the determination of emerging pollutants in water by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1216:2958–2969.

Schymanski EL, Singer HP, Longre P, Loos M, Ru M, Stravs MA, Ripolle C, Hollender J. 2014. Strategies to Characterize Polar Organic Contamination in Wastewater: Exploring the Capability of High Resolution Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 48:1811–1818.

Seifrtová M, Nováková L, Lino C, Pena A, Solich P. 2009. An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. *Anal. Chim. Acta* 649:158–179.

Senta I, Krizman I, Ahel M, Terzic S. 2015. Multiresidual analysis of emerging amphetamine-like psychoactive substances in wastewater and river water. *J. Chromatogr. A* 1425:204–212.

Villaverde-De-Sáa E, Fernández-López M, Rodil R, Quintana JB, Racamonde I, Cela R. 2015. Solid-phase extraction of perfluoroalkylated compounds from sea water. *J. Sep. Sci.* 38:1942–1950.

Wang Y, Li S, Zhang F, Lu Y, Yang B, Zhang F, Liang X. 2016. Study of matrix effects for liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometric analysis of 4 aminoglycosides residues in milk. *J. Chromatogr. A* 1437:8–14.

Partie 3 : Développements en SPE en ligne

L'injection en mode direct de l'échantillon a pour avantage d'introduire la totalité de l'échantillon dans le système analytique. Cependant, ce procédé ne permet pas souvent d'atteindre les seuils de détection recherchés (du $\mu\text{g/L}$ au pg/L). Ainsi, des techniques de préconcentration et de purification doivent être employées. L'extraction sur phase solide (SPE) est la méthode la plus couramment utilisée. Néanmoins, comme il a été démontré dans les parties précédentes, actuellement, aucune phase ne permet de retenir des composés d'une large gamme de polarité. De ce fait, plusieurs phases d'extraction, offrant des interactions spécifiques avec les composés d'intérêt, doivent être utilisées. Ceci implique un temps de préparation, d'extraction et de traitement de données très important.

Pour réduire ces délais, un système d'extraction sur phase solide, entièrement automatisée (SPE en ligne) et couplée à la LC-QqQ, a été étudié (Figure 32). L'objectif a été d'évaluer les performances de la méthode d'extraction SPE en ligne dans une optique d'analyse multirésidus à un niveau de traces. Ce procédé analytique a été comparé aux performances obtenues avec le mode d'injection directe de l'échantillon, en s'affranchissant de l'étape de préconcentration. Pour cela, la sensibilité des méthodes d'analyse a été déterminée par le rapport S/N (chapitre 2 section 5).

Les études en SPE en ligne ont été développées sur un système composé d'un module SPE (Agilent 1200)-HPLC 1290 couplée à un spectromètre MS/MS triple quadrupôle 6460 (*Agilent technologies*). Pour ce faire, l'appareil utilisé pour les analyses SPE en ligne (LC-QqQ Agilent) étant différent de celui des essais pour la SPE hors ligne (LC-QqQ Waters), quelques optimisations des paramètres de la source de la LC-QqQ ont été faites afin de s'assurer de la détection de tous les composés en injection directe (cette partie ne sera pas traitée dans ce travail de thèse). La variation du gaz de gaine, « sheat gaz » et du « fragmentor » a été mise en œuvre.

Les paramètres de source sont présentés Tableau 25. Tout comme les transitions MRM et les valeurs du « fragmentor » (Annexe 6).

Différentes cartouches d'Oasis HLB sont commercialement disponibles avec diverses quantités de phases. Comme décrit dans la partie bibliographique et dans le chapitre 2 section 3.2.2.1.3, la cartouche PLRP, proposant des mécanismes de phases inverses proche

de l'Oasis HLB, est également couramment utilisée pour des études multirésidus en SPE en ligne. Ainsi, les premières manipulations en SPE en ligne se sont focalisées sur la comparaison des performances de trois cartouches commerciales :

- Oasis HLB (3*20 mm) : 45 mg de phase SPE (appelée dans le reste du document Oasis HLB « commerciale ») (chapitre 3 section 2.1)
- Oasis HLB spark (2*10 mm): 10 mg de phase SPE (chapitre 3 section 2.2)
- PLRP (4,6*12 mm) : 10 mg de phase SPE (chapitre 3 section 2.3)

Des cartouches « à façon » (2*20 mm) permettant de contrôler la quantité ou la nature des phases, ont été ensuite élaborées et évaluées.

- Oasis HLB : ~20 mg de phase SPE (chapitre 3 section 2.4)
- Multicouche : ~20 mg de phase SPE (chapitre 3 section 2.4)

Dans un premier temps, pour toutes ces études, l'élution des composés a été réalisée en mode « backflush », grâce au gradient chromatographique (H₂O + 10 mM d'acétate d'ammonium / MeOH). Or, d'après les résultats de la SPE hors ligne, l'utilisation de phases aqueuses acides ou basiques est nécessaire pour éluer tous les composés. C'est pourquoi une partie de ces travaux a ensuite été consacrée à la mise en place d'un système offrant plusieurs types d'élution (publication n° 2).

1 Limites de quantification de la méthode en injection directe

Les limites de quantification instrumentales du système LC/QqQ ont été déterminées pour chaque composé selon la méthode décrite dans le chapitre 2 section 5. Deux gammes d'étalonnage ont été préparées dans l'eau MilliQ et injectées à plusieurs niveaux de concentration : 10, 100 et 1 000 ng/L.

Les résultats sont dévoilés dans la publication n°2.

2 Développements préliminaires de la méthode en SPE en ligne

La cartouche Oasis HLB a été utilisée pour débiter ces travaux, car il a été montré dans l'étude bibliographique que ce support est couramment utilisé en SPE en ligne pour des approches multirésidus (Togola et al. 2014; Cotton et al. 2016). Comme ce type de phase a été également testé pour les analyses en SPE hors ligne, cette étude permettra de comparer les deux modes d'extraction hors ligne et en ligne.

Pour les conditions initiales des essais SPE en ligne, le pH de l'échantillon n'a pas été ajusté, le débit de chargement a été de 1 mL/min et le volume d'injection de 900 µL.

Le pH, la quantité de phase, le volume de chargement et le volume de fuite ont été évalués lors de cette étude. Les conditions sont présentées Tableau 22.

2.1 Analyse avec une cartouche Oasis HLB « commerciale » (3*20 mm ; 45 mg)

Les composés modèles ont été injectés dans une solution à 1 µg/L dans de l'eau milliQ sur la cartouche Oasis HLB « commerciale » (3*20 mm). La plupart des composés (excepté le trichlorfon et le bromoxynil) ont été extraits grâce à cette cartouche. 30 % d'entre eux présentent des pics très fins (exemple : la lincomycine) alors que 70 % des autres molécules ont des pics très larges (exemple : l'acétamipride) (Figure 71). La grande quantité de phase (45 mg) et le volume plus important (3*20mm) de la cartouche entraînent un étalement du pic chromatographique, car les composés ayant le moins d'affinité avec le support se diffusent à travers ce dernier avant que l'élution en mode « backflush » ne démarre.

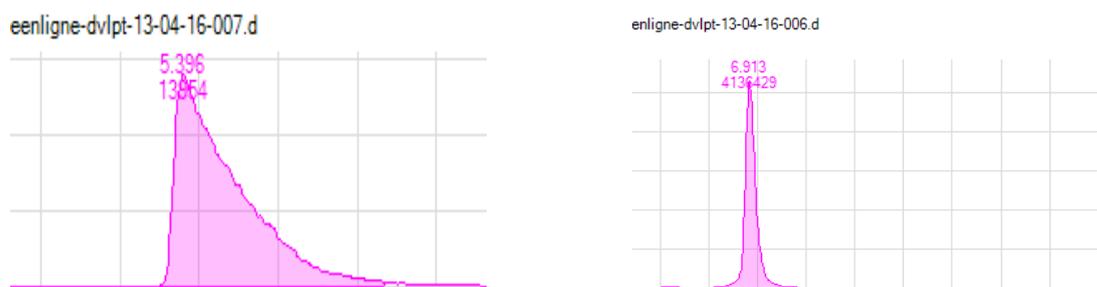


Figure 71 : Chromatogrammes obtenus pour l'acétamipride (gauche) et le lincomycine (droite) par analyse SPE en ligne/LC/QqQ en mode MRM

Influence du pH

Pour affiner les pics et améliorer la rétention des composés sur la cartouche SPE, le pH des échantillons a été ajusté avec de l'acide formique à pH =2 et pH = 3.

Le pH acide améliore la forme des pics de certains composés (Figure 72). A titre d'exemple, à pH non ajusté, l'hydroxyde ibuprofène se retrouve sous deux formes : une forme ionisée (50 %) et une forme neutre (50 %). A pH=3, ce composé est exclusivement sous forme neutre, ce qui favorise sa rétention avec un support de type phase inverse. En conséquence, son extraction est moins dispersée à travers la cartouche SPE en ligne et la forme du pic obtenue s'améliore.

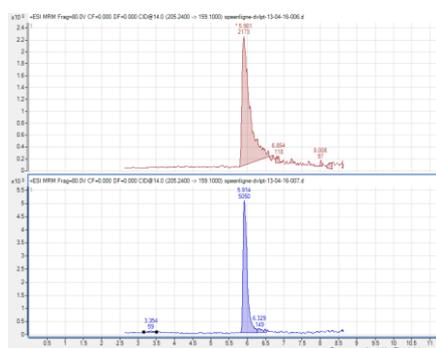


Figure 72 : Comparaison des chromatogrammes de l'hydroxyde ibuprofène à pH = 3 (bas) et à pH non ajusté (haut)

La Figure 73 montre que le pH acide permet l'extraction du trichlorfon. Dans ces conditions de pH (3), le trichlorfon se retrouve sous forme neutre. De ce fait, les interactions avec la phase inverse de la cartouche Oasis HLB sont beaucoup plus fortes et permettent une meilleure rétention de ce dernier.

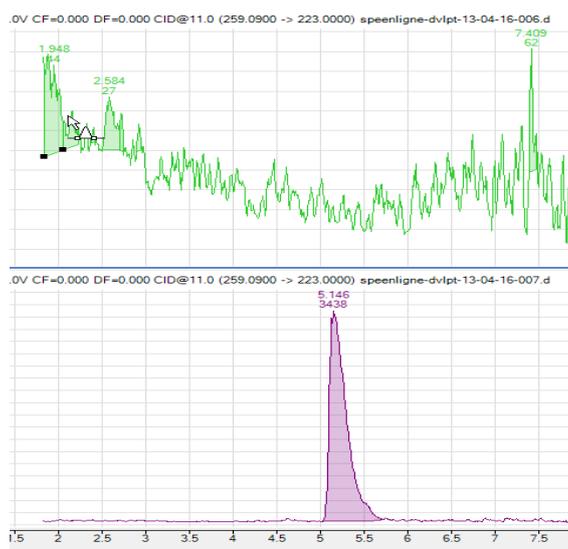


Figure 73 : Comparaison des chromatogrammes du trichlorfon à pH non ajusté (haut) et pH = 3 (bas).

Un pH acide peut cependant altérer la forme des pics de quelques composés. A titre d'exemple (Figure 74), à pH=2 ou pH=3, le lincomycine se retrouve sous plusieurs formes. Ce qui conduit à diminuer sa rétention avec un support en phase inverse. En SPE hors ligne, ce problème n'a pas été observé, car pour les composés analysés en C18, dont le lincomycine, les extraits sont repris à sec et resolubilisés deux fois (une première fois avec de l'ACN, puis une seconde fois avec 400 μ L de MeOH puis 400 μ L d' H_2O). Ainsi, le pH du solvant d'injection est neutre et non acide.

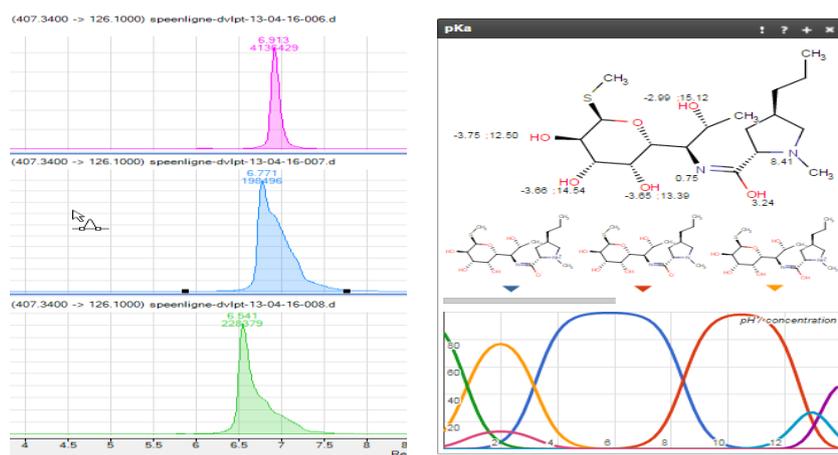


Figure 74 : Comparaison des chromatogrammes du lincomycine à pH non ajusté (en haut à gauche) ; pH = 3 (au milieu à gauche) et à pH = 2 (en bas à gauche). Modélisation des courbes de pKa du lincomycine (droite) (source : chemaxon)

Globalement, l'utilisation d'un pH acide améliore les extractions des composés modèles. Aucune différence significative n'est constatée avec un pH=2 par rapport à un pH=3. Ainsi,

les développements ont été poursuivis avec des échantillons fixés à pH=3. De plus, ce pH a été utilisé pour les analyses en SPE hors ligne, ce qui a facilité la comparaison des deux procédés dans les mêmes conditions de pH (pH = 3 Tableau 16).

En SPE hors ligne, dans de nombreux travaux de recherche, le pH de l'échantillon a été ajusté à 2 (Gervais et al. 2008; Fauvelle et al. 2015; Cruz 2015) pour favoriser la rétention des composés sur le support Oasis HLB. En revanche, en SPE en ligne, l'ajustement du pH n'a pas forcément été réalisé. Du moins, il n'a pas été signalé pour tous les travaux. Togola et al. (2014) ont démontré que si l'eau de chargement SPE était ajustée avec de l'acide acétique à pH = 3,4, il n'était pas nécessaire d'ajuster le pH de chaque échantillon. En effet, l'échantillon est tellement dilué par l'eau de chargement que son pH se rapproche du pH de l'eau de chargement sur la cartouche. Contrairement à la SPE hors ligne [procédé où le pH de chaque échantillon est ajusté (ex : 3)], cette étape en SPE en ligne est moins contraignante et les étapes de manipulation, tout comme les sources de contamination de l'échantillon, sont réduites. Dans le cadre de la thèse, ce paramètre n'a pas été testé. Mais d'après la publication n°2, il a été montré que la différence entre les résultats était sensiblement la même que celle des groupes qui ont ajusté l'eau de chargement.

2.2 Cartouche Oasis HLB spark

Une cartouche Oasis HLB spark (Waters) a été testée afin de comparer les performances de cette dernière par rapport à la cartouche HLB « commerciale ». L'utilisation de l'Oasis HLB spark nécessite un porteur « holder », ce qui implique qu'elle contient beaucoup moins de phases par rapport à la cartouche Oasis HLB « commerciale » (10 mg contre 45 mg). Elle a donc été testée pour tenter d'affiner la forme des pics.

Comme pour la cartouche évaluée précédemment, une extraction d'une solution d'échantillon à pH=3 à 1 µg/L dans l'eau milliQ a été réalisée sur ce support.

L'extraction des composés avec la cartouche Oasis HLB Spark améliore la forme des pics pour plus de 90 % des composés. La Figure 75 atteste que les pics sont beaucoup plus fins et leurs formes sont davantage gaussiennes. Le volume de phase étant plus faible, les molécules sont moins dispersées sur la cartouche et sont focalisées en tête de colonne.

En revanche, pour la totalité des composés, l'intensité des hauteurs des pics est beaucoup plus faible en utilisant la cartouche Oasis HLB spark (Figure 75).

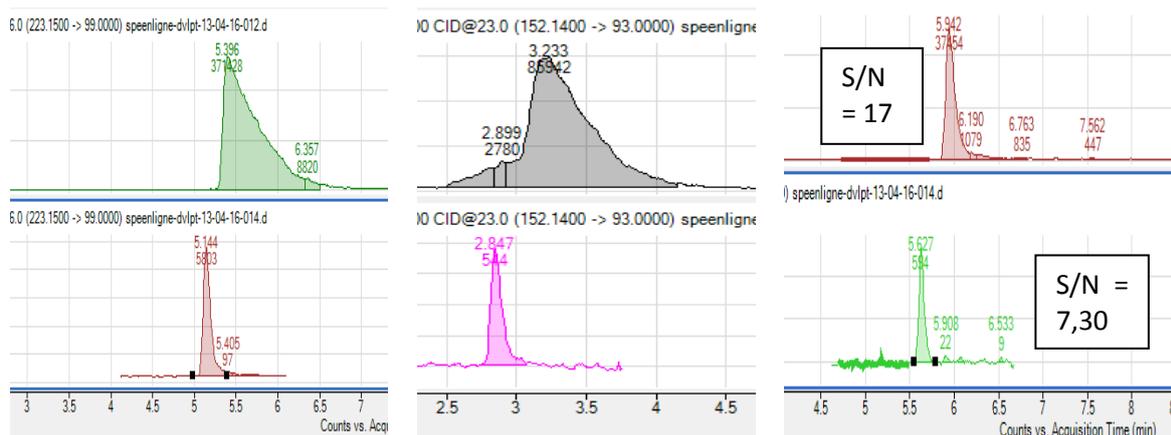


Figure 75 : Comparaison entre l'acétamipride (gauche), le paracétamol (milieu) et l'hydroxyde ibuprofène (droite) à pH = 3, avec la cartouche HLB « commerciale » (haut) et la cartouche HLB spark (bas)

Extraire les composés sur la cartouche Oasis HLB « commerciale » permet d'améliorer le rapport S/N, car cette cartouche possède beaucoup plus de phases et permet donc de retenir beaucoup plus de contaminants. En effet, lorsque l'hydroxy ibuprofène a été extrait sur une cartouche Oasis HLB « commerciale », son rapport S/N était meilleur que lorsqu'il l'a été sur la cartouche Oasis HLB Spark.

2.3 Comparaison des cartouches PLRP et Oasis HLB « commerciale » (3*20 mm)

Sur la base de travaux réalisés au LPTC, sur une autre cartouche à rétention en phase inverse, notamment pour l'analyse d'antibiotiques (12 molécules de la famille des aminoglycosides et la colistine) (Mokh 2013), le support PLRP (Agilent) offrait des performances similaires à la cartouche Oasis HLB « spark ». Qui plus est, les travaux de Chatellier and Lestremau (2015) ont prouvé que l'utilisation de la cartouche PLRP améliore également la finesse des pics. De ce fait, la cartouche PLRP a été évaluée pour effectuer des comparaisons avec des performances obtenues avec la cartouche Oasis HLB « commerciale » (3*20 mm).

Une gamme de concentration (acidifiée à pH=3) a été préparée à différents niveaux de concentration : 10, 100, 1 000 ng/L et injectée en duplicat. Les échantillons ont été dilués dans de l'eau milliQ. Une comparaison de la forme des pics, des LQ et de l'alignement linéaire des points a été effectuée pour les deux cartouches. Les LQs ont été évaluées grâce au rapport S/N = 10. La procédure pour déterminer les LQ est déroulée chapitre 2 section 5.

2.3.1 Formes des pics

Un compromis doit être trouvé entre la sensibilité et la forme des pics. En effet, théoriquement, plus la cartouche aura une grande quantité de phases, plus elle retiendra non seulement un nombre plus important de composés d'intérêt mais également la matrice.

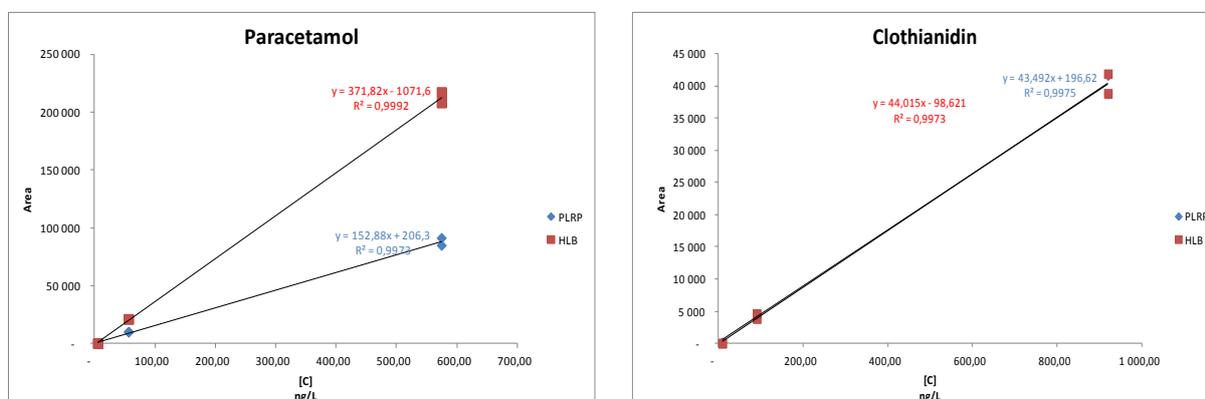
Par ailleurs, la finesse du pic peut être privilégiée à travers une cartouche contenant moins de phases car pour déterminer des LQ, le rapport S/N a été utilisé. L'apex d'un pic « fin » est beaucoup plus haut par rapport à un pic qui s'étale et le bruit de fond est réduit car la cartouche contenant moins de phases retient moins de matrices.

Quel que soit le niveau de concentration, la forme des pics est plus symétrique lorsque la cartouche PLRP est utilisée. La PLRP étant plus petite en taille que l'Oasis HLB « commerciale » (4,6*12 mm contre 3*20 mm), la grande largeur des pics des composés extraits avec l'Oasis HLB « commerciale » pourrait être expliquée par une diffusion plus importante des molécules à travers le support, ces derniers étant moins focalisés en tête de cartouche (Chatellier and Lestremau 2013). De plus, la quantité de phases est beaucoup plus importante avec la cartouche Oasis HLB « commerciale » par rapport à la PLRP (45 mg contre 10 mg).

2.3.2 Tests de linéarité et de sensibilité

Pour toutes les cartouches utilisées, la réponse entre l'aire et la concentration est proportionnelle pour 75 % des composés (Figure 76).

Mais, pour 15 % des contaminants, l'extraction sur la cartouche PLRP n'a pas abouti à un alignement des points par rapport à l'Oasis HLB « commerciale ».



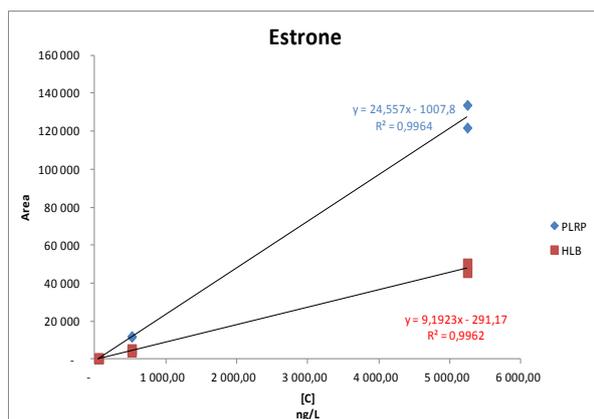


Figure 76 : Test de linéarité de la réponse du paracétamol, du clothianidiné et de l'estrone

Au vu des résultats obtenus, ces deux supports offrent globalement les mêmes performances sur l'alignement des points testés. Toutefois, pour deux composés, la cartouche PLRP offre de meilleures performances avec des différences notables de pente (facteur > 2) comme pour l'estrone par exemple (Figure 76).

2.3.3 Limites de quantification (LQ)

La Figure 77 dévoile que 76 % des contaminants présentent des LQ similaires lorsqu'ils sont extraits avec la cartouche Oasis HLB « commerciale » et la cartouche PLRP. 7 % des composés ont des LQs légèrement plus basses lorsqu'ils ont été extraits avec la cartouche Oasis HLB « commerciale » ; alors que 17 % des composés affichent des niveaux de quantification plus faibles avec des extractions par la cartouche PLRP. En termes de sensibilité, la cartouche Oasis HLB « commerciale » permet d'atteindre des niveaux de sensibilité plus bas.

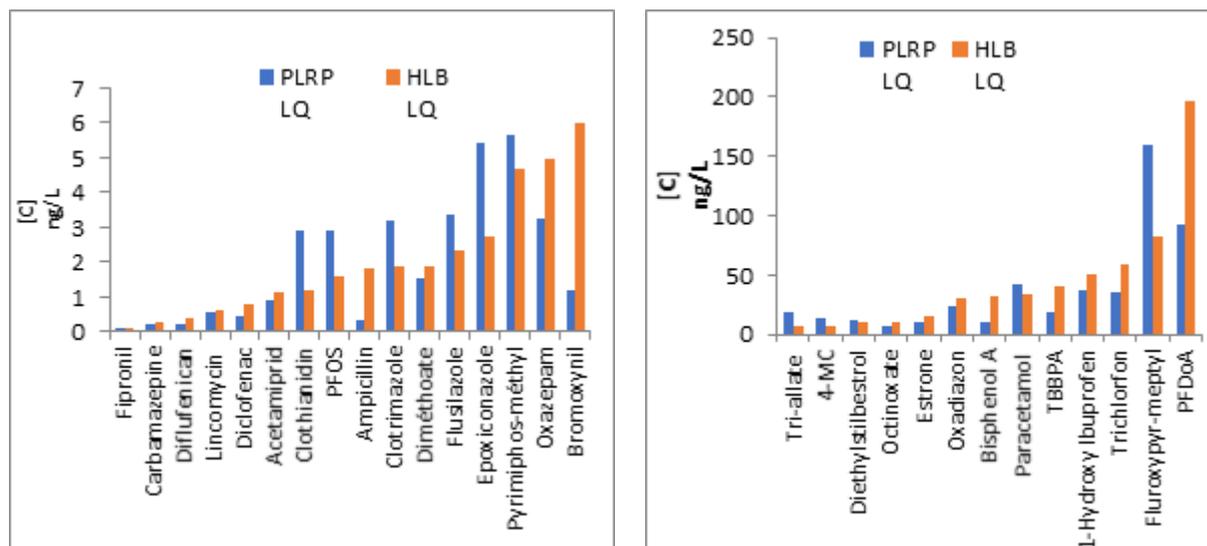


Figure 77 : Limites de quantification des composés étudiés pour les cartouches Oasis HLB « commerciale » et PLRP

2.3.4 Détermination du volume de fuite

Les optimisations précédentes ont été réalisées en extrayant 900 μL d'échantillon. En injectant un volume trop important, les composés ayant une faible affinité avec la phase stationnaire peuvent percoler à travers la cartouche. La détermination du volume de fuite permet une évaluation de la capacité de rétention des cartouches en fonction des composés.

Une solution à 1 000 ng/L a été injectée en duplicat à différents volumes d'échantillon d'eau milliQ: 100, 200, 300, 500 et 900 μL . Un volume d'injection jusqu'à 900 μL a été testé car cela représente le volume total de la boucle.

Des graphes ont été tracés en fonction des aires obtenues par quantité injectée pour chaque composé [Aire= $f(V_{\text{injecté}})$].

La Figure 78 montre que la réponse de l'aire en fonction de la quantité injectée n'est pas linéaire sur toute la gamme de concentrations testées lorsque le paracétamol et l'ampicilline sont extraits avec la cartouche PLRP. A partir de 500 μL , un palier apparaît ce qui traduit un début de percolation des composés à travers ce support. Pour le pirimiphos, une baisse de signal est même observée pour 900 μL d'extraction sur la cartouche PLRP.

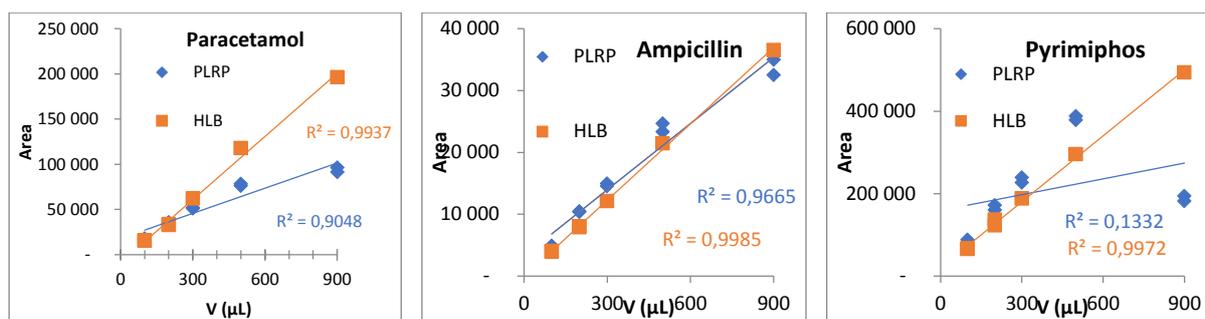


Figure 78 : Aire en fonction des volumes injectés pour le paracétamol, l'ampicilline et le pyrimiphos pour les cartouches PLRP et Oasis HLB « commerciales »

Les études en SPE hors ligne ont montré que la capacité de rétention est relativement faible pour les extractions du paracétamol par cartouche Oasis HLB.

Ainsi, en SPE en ligne, avec une cartouche PLRP et un volume de phase plus faible, une partie de ce composé n'a pas été retenue et a migré à travers tout le support. Ce phénomène n'est pas observé pour la cartouche Oasis HLB « commerciale », dont la quantité de phase est beaucoup plus importante par rapport à la cartouche PLRP.

La Figure 79 montre que les cartouches HLB et PLRP ne sont pas adaptées pour la rétention de certains composés ioniques, comme le PFDoA ou le fluoroxypr-meptyl. Pour favoriser la rétention de ces composés polaires sur le support SPE, des groupements spécifiques de type ioniques pourraient être employés, telle que la Strata-X-AW (*Phenomenex*), pour extraire les composés de la famille des PFAS (Munoz et al. 2015; Villaverde-De-Sáa et al. 2015).

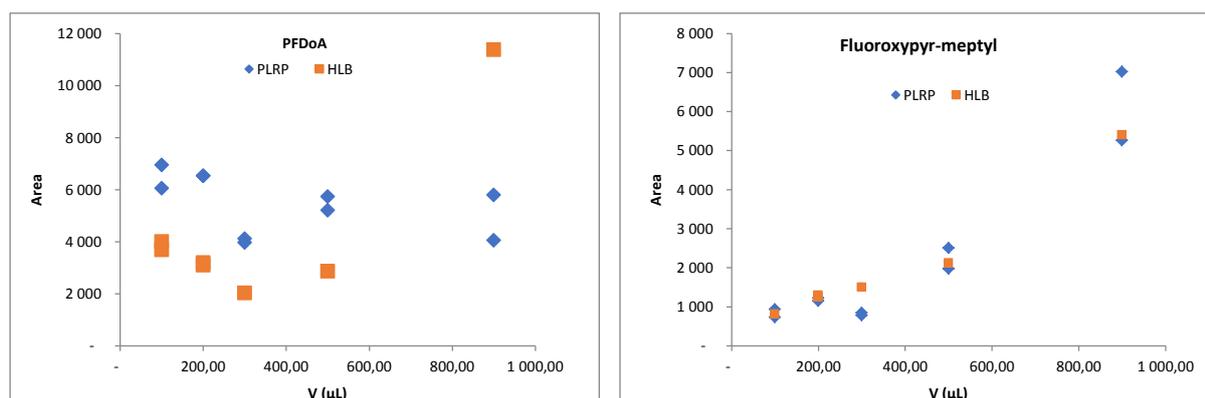


Figure 79 : Aires en fonction des volumes injectés du PFDoA pour les cartouches PLRP et Oasis HLB « commerciales »

Globalement, comme le montre la Figure 81, 65 % des composés extraits sur la cartouche PLRP ont un volume de fuite de 900 μL, 24 % un volume de fuite de 500 μL et 7 % un volume de fuite de 300 μL. 3 % des molécules n'ont pas été extraites. Parmi les 65 % des composés

ayant un volume de fuite de 900 μL , 42 % ont une réponse pseudo linéaire entre le volume injecté et l'aire, car le coefficient de corrélation se situe entre 0,95 et 0,98. Cependant, d'un point de vue qualitatif, ils ont été détectés jusqu'à 900 μL de volume extrait (Figure 80).

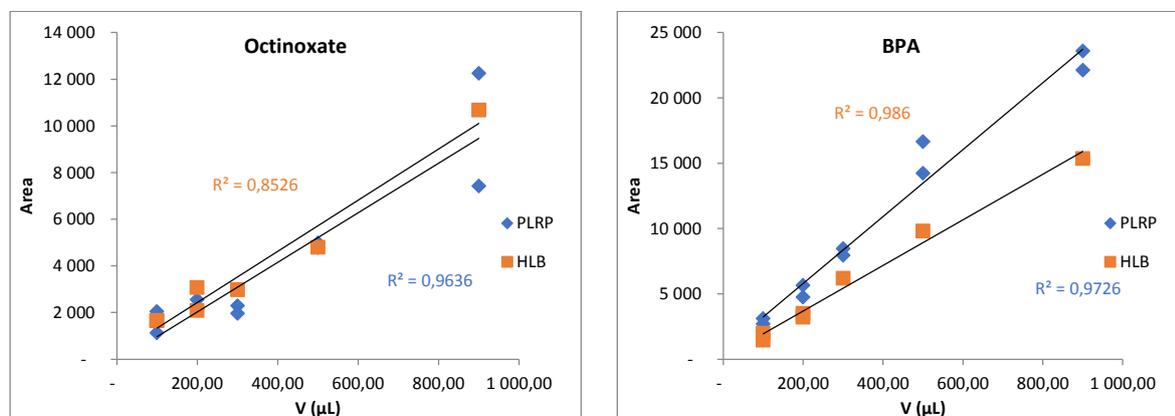


Figure 80 : Réponse pseudo-linéaire de l'octinoxate et du bisphénol A

Lorsque les contaminants ont été extraits sur la cartouche Oasis HLB « commerciale », la quasi-totalité (97 %) des composés a présenté un volume de fuite de 900 μL contre 3 % à 500 μL . Parmi les 97 %, 25 % ont une réponse pseudo linéaire entre le volume injecté et l'aire [ex : fluoroxypyr-meptyl (Figure 79)]. Dans ce cas, et d'un point de vue purement qualitatif, il a été considéré pour ce type de composés que le volume de fuite équivalait à 900 μL .

En somme, malgré une forme de pic améliorée lorsque la cartouche PLRP est employée, la cartouche Oasis HLB « commerciale » a été sélectionnée pour la suite des manipulations.

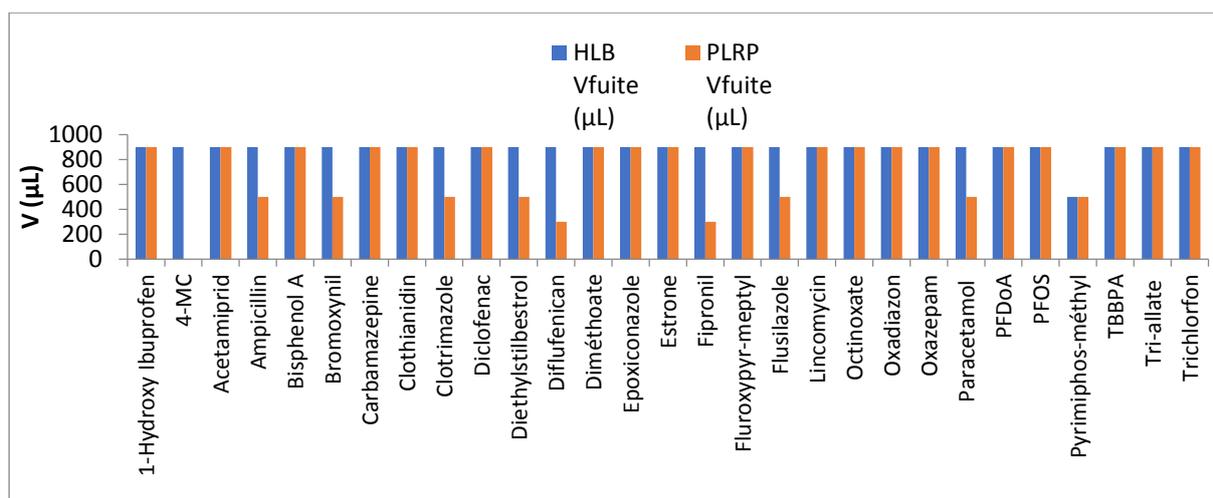


Figure 81 : Comparaison des volumes de fuites estimés pour les cartouches HLB et PLRP pour chaque composé

2.4 Cartouches « à façon »

A la suite de l'étude bibliographique présentée en chapitre 1, il avait été constaté que les travaux de Huntscha et al. (2012) décrivaient un dispositif de cartouche SPE en ligne permettant la fabrication de cartouches « à façon » (chapitre 1 section 5.1.2.2).

De ce fait, des cartouches « à façon » ont été réalisées au laboratoire :

- ✓ Oasis HLB « à façon ». Les développements précédents ont montré que les résultats obtenus avec la cartouche Oasis HLB « commerciale » offraient de bonnes performances. Cependant, à cause de la quantité de phase SPE (45 mg), les pics chromatographiques étaient très larges. Une cartouche « à façon » a donc été réalisée pour tenter d'affiner les pics en y introduisant moins de phase SPE (~20 mg). Pour toutes les expériences, le pH des échantillons a été ajusté à 3.
- ✓ Multicouche : elle contient ~10 mg d'Oasis HLB puis ~10 mg d'un mélange (Strata -X-CW + Strata-X-AW + Isolute ENV +) (1/1/1,5). Pour toutes les expériences, le pH des échantillons a été ajusté à 6,7 (Huntscha et al. 2012). Les présentations des cartouches dans le chapitre 2 section 3.1.3.2 ont montré que les cartouches à rétention d'anions faibles pouvaient être employées à pH neutre ou acide et les cartouches à échange de cations faibles s'utilisaient à pH basique ou neutre. Ainsi, pour pouvoir utiliser les deux types de phase simultanément, travailler avec un pH de l'échantillon neutre est préférable.

Un travail de tests de performances similaire à celui effectué pour les cartouches précédentes a été réalisé pour ces deux supports :

- ✓ estimation des LQ pour chaque composé (chapitre 3 section 2.4.1).
- ✓ détermination du volume de fuite : 100, 200, 300, 500, 750 et 900 µL (chapitre 3 section 2.4.3)

2.4.1 Détermination des LQs

Les limites de quantification estimées sont présentées pour les trois cartouches qui ont été déterminées les plus performantes suite aux essais préliminaires : les cartouches « à façon » Oasis HLB et multicouche et la cartouche Oasis HLB « commerciale » (Tableau 40).

Les résultats qui sont exposés dans ce paragraphe ont été réalisés en extrayant 900 µL d'échantillon afin de pouvoir déterminer les performances de la méthode SPE en ligne couplée à la LC-QqQ avec une élution directement par le gradient chromatographique (Tableau 24).

Pour étudier les LQ de tous les composés, une gamme d'étalonnage a été réalisée avec des échantillons de concentrations suivantes : 1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000 ng/L.

Tableau 40 : LQ estimées (en ng/L) pour différentes cartouches de SPE en ligne

| Composés | Multicouche ~20 mg | Oasis HLB « à façon » ~20 mg [C] ng/L | Oasis HLB « commerciale » 45 mg |
|----------------------|-----------------------|--|---------------------------------------|
| 1-Hydroxy Ibuprofène | 200 | 100 | 100 |
| Acétamipride | 10 | 10 | 10 |
| Ampicilline | 30 | 10 | 10 |
| BPA | 160 | 3 | 160 |
| Bromoxinil | - | 37 | 36 |
| Carbamazépine | 4 | 4 | 3 |
| Clothianidine | 45 | 45 | 10 |
| Clotrimazole | 10 | 1 | 10 |
| DBP | 1 | 1 | 1 |
| Diclofénac | 30 | 3 | 3 |
| Diéthylstilbestrol | 40 | 40 | 40 |
| Diflufénican | 6 | 6 | 6 |
| Diisodécy l phtalate | nd | nd | 80 |
| Diméthoate | 10 | 1 | 1 |
| Epoxiconazole | 1 | 10 | 10 |

| Composés | Multicouche ~20 mg | Oasis HLB « à façon » ~20 mg [C] ng/L | Oasis HLB « commerciale » 45 mg |
|--------------------|-----------------------|--|---------------------------------------|
| Estrone | 50 | 50 | 50 |
| Fipronil | 1 | 1 | 1 |
| Fluoroxypyr-meptyl | 50 | 270 | 270 |
| Fluzilazole | 4 | 4 | 3 |
| Irganox 1076 | 4200 | 2000 | 40 |
| Lincomycine | 1 | 1 | 1 |
| 4-MC | 10 | 10 | 40 |
| NP2EO | 4 | 370 | 3 |
| Octinoxate | 100 | 100 | 470 |
| Oxadiazon | 6 | 30 | 30 |
| Oxazépam | 4 | 4 | 4 |
| Paracétamol | 280 | 30 | 30 |
| PFDoA | 30 | 1500 | 1500 |
| PFOS | 3 | 3 | 150 |
| Pyrimiphos | 4 | 10 | 10 |
| TBBPA | 41 | 210 | 210 |
| Tri-allate | 10 | 60 | 60 |
| Trichlorfon | nd | 115 | 50 |

Malgré un volume de phase beaucoup plus important, la cartouche Oasis HLB « commerciale » n'apporte pas de plus-value par rapport aux deux autres supports.

Les cartouches Oasis HLB « à façon » et multicouche offrent des résultats complémentaires. En effet, 42 % des composés ont une LQ relativement similaire pour ces deux cartouches. Pour 23 % d'entre eux, les niveaux de sensibilité sont meilleurs lorsqu'ils ont été extraits avec le support multicouche ; tandis que 34 % le sont avec l'Oasis HLB « à façon ». D'où le choix de ces deux supports pour la suite des travaux.

2.4.2 Forme des pics obtenus avec les cartouches « à façon »

Par rapport aux résultats obtenus sur la cartouche Oasis HLB « commerciale », la forme des pics obtenue avec les cartouches « à façon » multicouche et HLB est relativement meilleure pour tous les composés.

2.4.3 Détermination du volume de fuite

Les volumes de fuite ont été déterminés en injectant plusieurs volumes d'une solution à une concentration de 1 µg/L dans l'eau milliQ.

2.4.3.1 Volume de fuite de la cartouche Oasis HLB « à façon »

Par rapport à la cartouche Oasis HLB « commerciale », cette cartouche « à façon » est beaucoup plus petite en termes de dimension (2*20mm contre 3*20mm) et de quantité de phase (20 mg contre 45 mg).

Ainsi, les volumes de fuite de certains composés sont inférieurs avec ce type de support. A titre d'exemple, le volume de fuite de l'estrone est de 750 μL (Figure 82) lorsqu'il a été extrait sur la cartouche Oasis HLB « à façon » ; or, quand il a été extrait sur le support Oasis HLB « commerciale », son volume était d'au moins 900 μL .

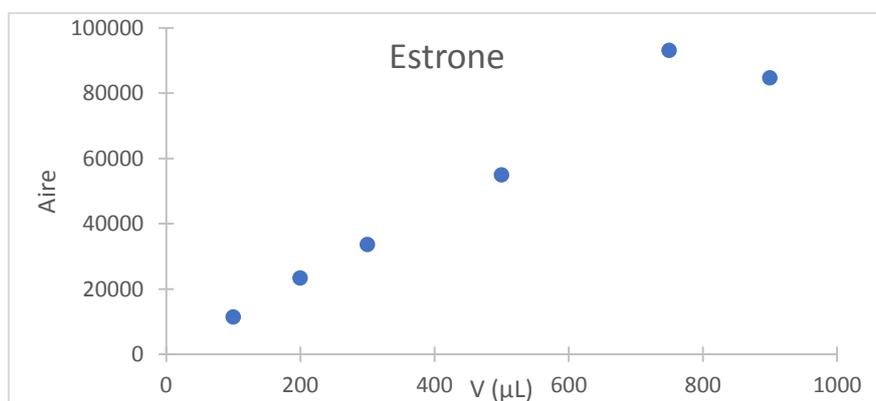


Figure 82 : Volume de fuite de l'estrone sur la cartouche Oasis HLB « à façon »

Globalement, la Figure 83 montre que 80 % des molécules ont un volume de percolation de 900 μL . Il est de 750 μL pour 20 % d'entre elles ; alors que quand les molécules ont été extraites sur l'Oasis HLB « commerciale », 97 % avaient un volume de fuite de 900 μL . Cependant, il n'y a que 6 % des contaminants qui ne présentent pas de réponse linéaire entre l'aire et le volume injecté : le fluorxypyr mepyl et le disodécyl phtalate ; contre 25% avec l'Oasis HLB « commerciale ».

La cartouche Oasis HLB « à façon » contient donc moins de phases mais elle permet d'obtenir des meilleures extractions, ce qui influe les résultats au niveau de la linéarité.

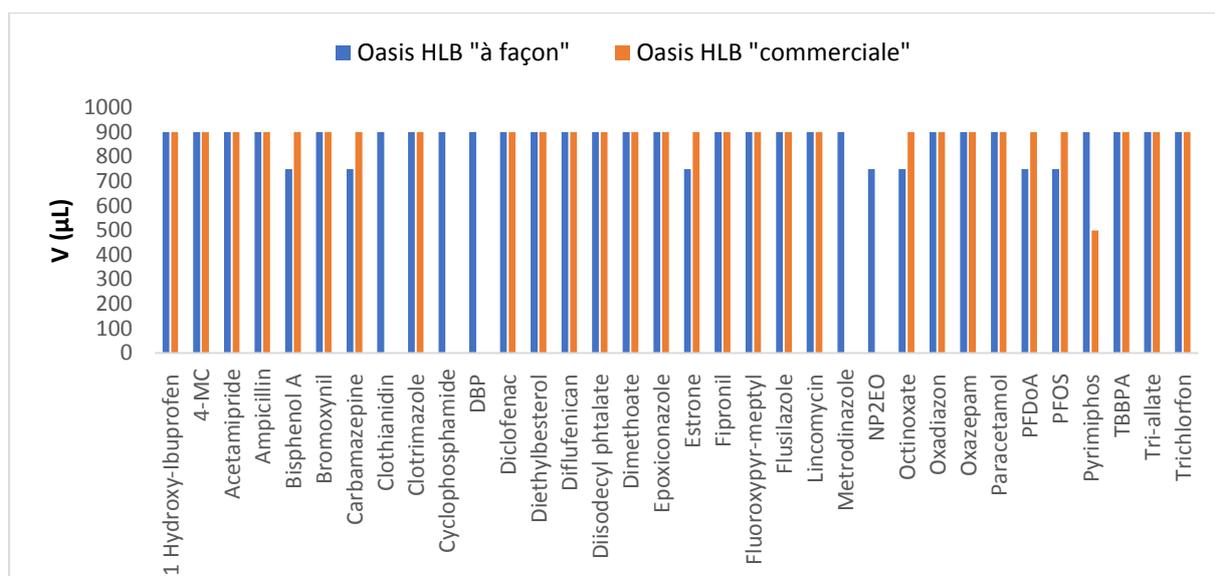


Figure 83 : Volume de fuite (µL injecté) estimé des composés sur la cartouche Oasis HLB « à façon »¹⁵

A titre d'exemple, la Figure 84 montre qu'une meilleure linéarité est obtenue lorsque la cartouche « à façon » est employée pour l'analyse de l'oxazéпам.

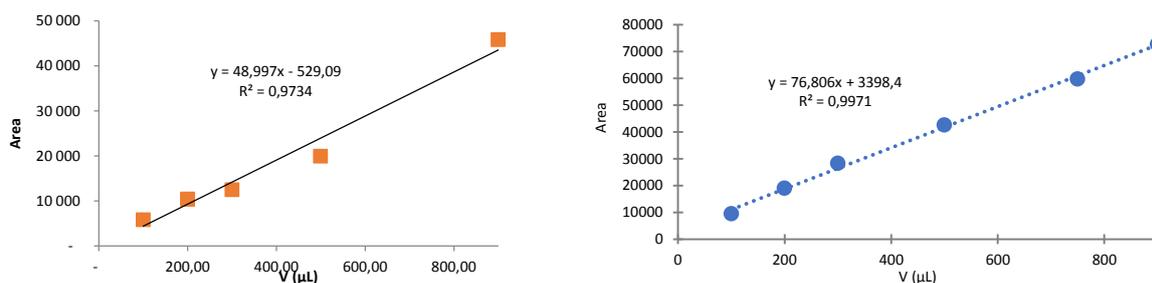


Figure 84 : Représentation de l'aire en fonction du volume injecté sur la cartouche Oasis HLB « commerciale » (gauche) et « à façon » (droite) pour l'oxazéпам

2.4.3.2 Volume de fuite de la cartouche multicouche

Avec cette cartouche, 93 % des molécules ont un volume de fuite de 900 µL. Parmi ces 93 %, 15 % ont une réponse entre l'aire et le volume extrait pseudo linéaire, car le coefficient de corrélation se situe entre 0,95 et 0,98.

¹⁵ Certains composés, tels que le clothianidin, la cyclophosphamide, le DBP, le métronidazole ou le NP2EO, n'avaient pas été ajoutés dans la liste lors des extractions préliminaires sur l'Oasis HLB « commerciale ».

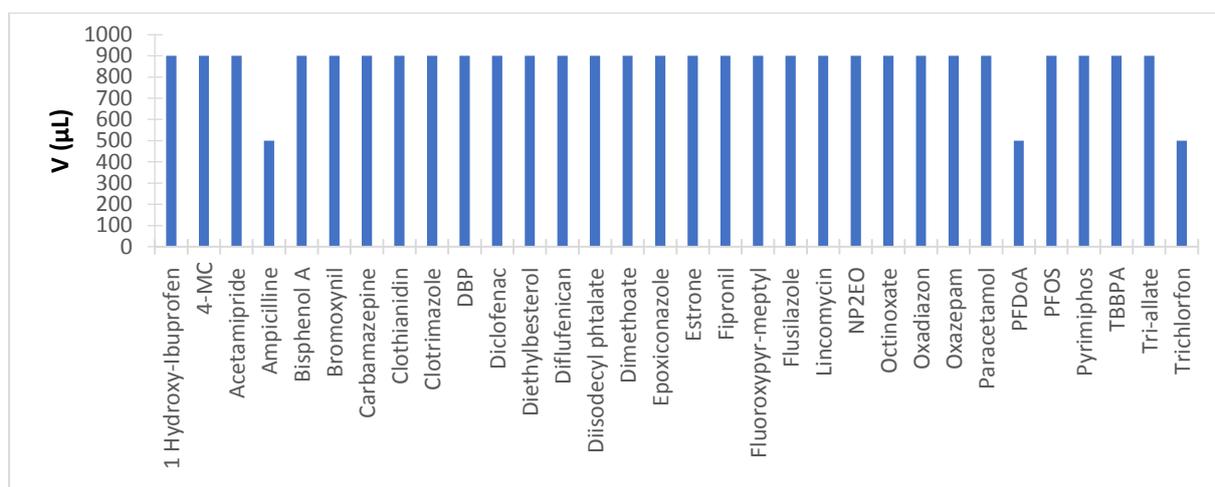


Figure 85 : Volumes de fuite estimés des composés sur la cartouche multicouche

La Figure 86 révèle que pour la cartouche multicouche, la linéarité est améliorée globalement par rapport à l'Oasis HLB « à façon », comme par exemple pour le fluoxypyr-meptyl.

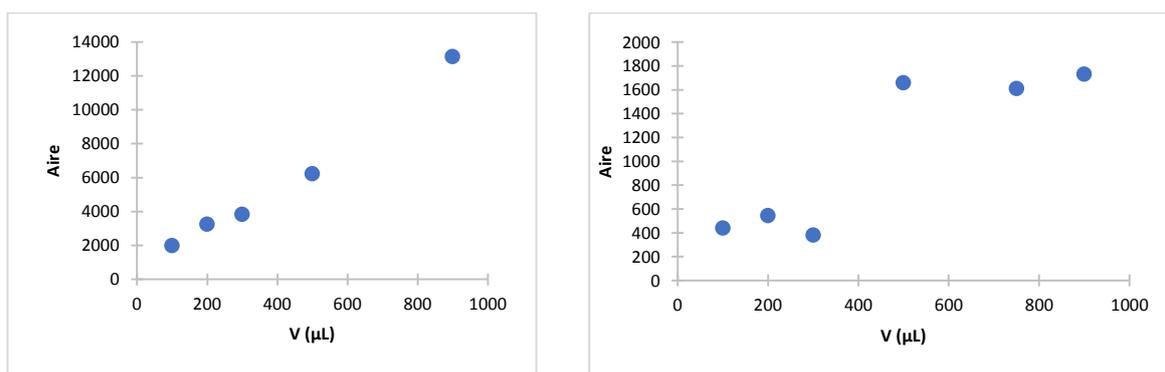


Figure 86 : Extraction du fluoxypyr-meptyl sur une cartouche multicouche (gauche) et Oasis HLB « à façon » (droite)

Le BPA, la carbamazépine, l'estrone, le NPE2O, l'octinoxate, et le PFOS ont également un volume de fuite plus important avec la cartouche multicouche, en comparaison à la cartouche HLB « à façon » (900 µL contre 750 µL) (Figure 83 et Figure 85).

De plus, la Figure 87 montre que ce support est adapté pour l'extraction des composés ioniques (ex : PFOS, PFDoA). La réponse entre l'aire et le volume d'extraction est effectivement linéaire pour des composés, tels que le PFOS ou le PFDoA (jusqu'à 750 µL).

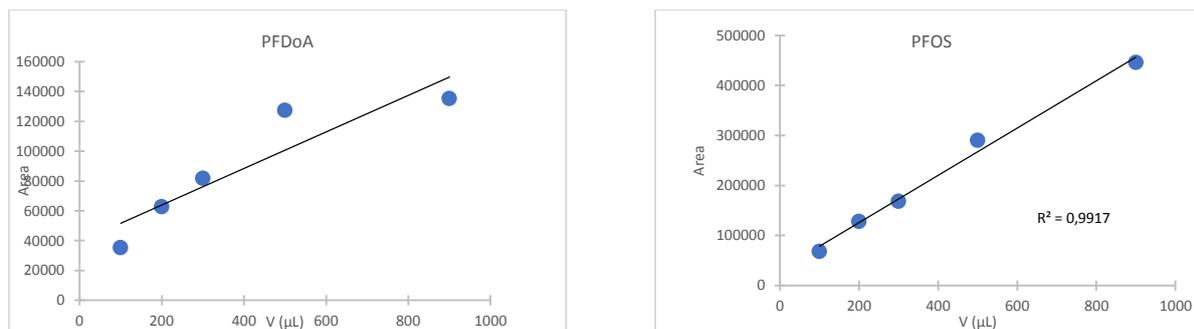


Figure 87 : Volumes de fuite du PFOS et du PFDoA obtenus sur la cartouche multicouche

2.5 Conclusion méthodologique

Malgré des résultats très hétérogènes, en injectant un volume de 900 µL, il résulte des pics plus symétriques avec la cartouche PLRP par rapport à la cartouche Oasis HLB « commerciale ».

Les essais réalisés sur les volumes de fuite ont montré que 900 µL représentaient un volume d'injection trop important pour la cartouche PLRP avec les dimensions testées (4,6 * 12mm). Le volume d'injection de 500 µL semble plus adapté pour celle-ci.

Globalement, à la suite des premiers tests, de meilleurs résultats ont été obtenus en injectant 900 µL sur la cartouche Oasis HLB « commerciale », ce qui permet d'avoir un bon compromis entre sensibilité et volume de fuite.

Les essais préliminaires suivants ont néanmoins démontré que la cartouche Oasis HLB « à façon » offrait de meilleures performances (LQ et forme de pic), au niveau de la sensibilité, que la cartouche « commerciale » de nature semblable. Bien que cette dernière contienne une quantité de phases très importante (45 mg), le rapport S/N est meilleur lorsque la cartouche Oasis HLB « à façon » est employé et de meilleures LQ sont obtenues (Tableau 40). Pour une grande quantité de phases (et pour un diamètre de cartouche plus important), ceci peut ainsi entraîner un étalement du pic chromatographique lors de l'élution de ces derniers en mode « backflush ». Pour améliorer la finesse des pics, il est important que les contaminants soient focalisés en tête de cartouche SPE ou de réduire le diamètre des cartouches afin que l'élution soit concentrée sur un petit volume d'échantillon.

Ainsi, la cartouche Oasis HLB « à façon » permet globalement d'obtenir de meilleures performances. Elle a été retenue pour la suite des manipulations. La cartouche multicouche, qui inclut des modes d'interactions différents (notamment ioniques), et pour lesquels des résultats satisfaisants ont été obtenus, a été également sélectionnée.

Le choix de ces deux cartouches permettra de comparer les performances en termes de rétention et de sensibilité d'une phase : l'Oasis HLB, très utilisée pour les analyses multirésidus, notamment pour les composés pharmaceutiques et pesticides (Buchberger 2010; Gracia-Lor et al. 2012; Domínguez-Romero et al. 2014) et la cartouche multicouche, qui offre une gamme de rétention plus élargie, notamment pour les composés polaires grâce à sa phase composée de (Strata-X-AW/Strata-X-CW/Isolute ENV +).

3 Développements de méthodes SPE en ligne : synthèse des résultats de la Publication n°2

Dans cette partie, le développement d'une méthode SPE en ligne couplée à un LC-QqQ a été réalisé pour tenter de retenir une large gamme de composés organiques. Deux supports de préconcentration ont été évalués sur une liste de composés modèles afin d'atteindre cet objectif : une phase Oasis HLB (phase couramment employée pour les analyses multirésidus) et un autre support composé de plusieurs phases : Oasis HLB + mélange (Strata-X-AW/ Strata-X-CW/ Isolute ENV +) (Kern et al. 2009; Huntscha et al. 2012). L'injection directe a également été mise en œuvre pour comparer avec les performances obtenues pour les deux cartouches.

L'élution en SPE en ligne, avec le support Oasis HLB, a été réalisée à l'aide du gradient chromatographique (H_2O + 10 mM d'acétate d'ammonium/ MeOH), en mode « backflush ». En revanche, pour la cartouche multicouche comprenant des phases ioniques, l'évaluation des conditions d'élution a conduit à sélectionner plusieurs solutions : H_2O + NH_4OH (pH = 8,9) et H_2O + HCOOH (pH = 2,6), avant l'élution par le gradient chromatographique.

La comparaison des performances de ces deux cartouches a été réalisée. Pour cela, le volume de fuite de chaque cartouche a été déterminé, ainsi que les limites de quantification sur les deux supports. Cela a permis de montrer la complémentarité de ces dernières dans l'eau milliQ.

Les deux cartouches ont été testées dans des matrices réelles (eau de source et eau de rivière). Il a été démontré que plus la matrice était complexe en charge organique, plus les effets de matrice étaient importants, notamment au niveau de la cartouche multicouche.

Par ailleurs, l'utilisation de la SPE en ligne s'avère être une bonne alternative à la SPE hors ligne pour l'analyse des composés ubiquistes, car les étapes de préparation sont minimisées, entraînant une diminution des risques de contamination.

Publication n°2: *Development of an on-line Solid Phase Extraction / liquid chromatography - mass spectrometry method for the detection of a wide range of environmental pollutants in surface waters*

Le supplementary material se trouve dans l'Annexe 7.

Development of an on-line Solid Phase Extraction / liquid chromatography - mass spectrometry method for the detection of a wide range of environmental pollutants in surface waters

Daniel LEONCO^{1,2}, Patrick PARDON^{2a}, Marie-Hélène DEVIER^{2a}, François LESTREMAU¹, Hélène BUDZINSKI^{2b*}

(1) INERIS, Direction des Risques Chroniques-Parc Technologique Alata - BP 2 - 60550 Verneuil-en-Halatte

(2^a) Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805 LPTC, 351, Cours de la Libération, 33405 Talence, France

(2^b) CNRS, EPOC, UMR 5805 LPTC, 351, Cours de la Libération, 33405 Talence, France

*Corresponding author: Hélène Budzinski

E-mail address: helene.budzinski@u-bordeaux.fr

Abstract

Toxicological assessments have demonstrated that pollutants present in the aquatic environments can be toxic at ng/L level. In that frame, chromatographic techniques coupled to mass spectrometry represent the most efficient way to obtain sensitivity and a large detection range.

Environmental pollutants have very diverse physico-chemical properties from non-polar to very polar compounds. Therefore, developing a multiresidue analysis suited for the detection of all these contaminants represents an analytical challenge. Direct injection and online Solid Phase Extraction (offline SPE) were evaluated for the detection of a wide range of environmental pollutants in surface waters.

In this study, a list of 58 representative model compounds of pollutants commonly determined in aquatic environments with a special focus on polar compounds was used. Direct injection had the advantage of offering the detection of all injection compounds but displayed limited sensitivities. For on line SPE, an Oasis HLB phase, which is the most common SPE phase reported in the literature for multiresidue analysis was used and compared to a home-made multilayer cartridge (Oasis HLB/Strata-X-AW/Strata-X-CW/Isolute ENV +). Results shown for respectively the multilayer and the Oasis HLB cartridges, that 15 and 10 contaminants were extracted with a LOQ < 1 ng/L in milliQ water. The influence of the matrix (mineral water and river water) was particularly significant with an increase of the LOQ, particularly for the multilayer cartridges. In source water and river water, respectively 5 and 11 contaminants were detected below 1 ng/L for the multilayer cartridge and 9 and 11 pollutants for the Oasis HLB cartridge. Overall, this study highlights the advantages and disadvantages of both modes of analysis in the tested conditions.

1. Introduction

Pollutants are commonly present in all aquatic environments. The degree of knowledge about these contaminants is currently very limited. Their analysis is usually performed on a pre-established list of targeted compounds based on current knowledge which exclude all monitoring of non-referenced pollutants. Thus, the information about these molecules must be improved to establish a relevant monitoring list of pollutants for aquatic environments.

In this environment, most of the pollutants can be harmful and dangerous for ecosystems at trace levels (ng/L). Therefore, sensitive analytical techniques have to be developed. Thus, chromatographic techniques coupled to mass spectrometry represent the most efficient way to obtain a large and sensitive detection range.

Moreover, very diverse pollutants, from very polar to apolar compounds, can be determined. Consequently, analyzing all these molecules in a single step represents an analytical challenge. Direct injection of a water sample in the LC-MS/MS has for advantage to introduce the totality of the sample in the analytical system. For problematic compounds such as very polar substances, this approach can represent an interesting option (Loos et al. 2010). However, this process cannot generally allow to reach the levels of detection required. Moreover, all interferences from the matrix are also directly injected in the analytical system, potentially increasing the risk of clogging the system and produce severe ionization interferences.

Thus, a preconcentration step is often used. The most practical and efficient way is by solid-phase extraction (SPE). However, currently, there is not a single phase which is sufficiently efficient to retain a wide range of polarity. Consequently, several SPE phases with different properties have to be used. However, using these methods involve numerous constraints: a long sample preparation time, a large sample volume (from 50 to 1000 mL for example). In the aim of a non-target screening analysis, the extraction of multiple complementary cartridges has to be performed which involves many different and long data processing times.

To reduce the time of preparation and the amount of solvent or samples used, online SPE can be used. A small quantity of sample is extracted with this method (typically from 30 μ L (Grignon et al. 2016) to 5 mL (Yao et al. 2016)).

HLB stationary support (reverse phase mechanism) is the most widely phase used for online SPE extraction of target analytes, especially for multi-residue analysis (Vieno et al. 2007; Petrovic et al. 2010; Net et al. 2015). Oasis HLB is adapted for the extraction of compounds usually in a range between $0 < \text{Log } D < 8$ (Buchberger 2010; Gracia-Lor et al. 2012; Domínguez-Romero et al. 2014). The recovery for molecules with ionisable groups can be improved by setting the pH in order to obtain their neutral form (either for the acid at low pH or basic at high pH). These cartridges are then suitable for the extraction of a wide range of neutral organic molecules ($\log D_{O/W} > 0$), or having moderate basic or acidic groups. Reverse phase cartridges with Oasis HLB were often employed to analyze target compounds such as pesticides in drinkwater (Shoemaker 2016), or pesticides and drugs in water (Cotton et al. 2016). Other cartridges offering a reverse phase mechanism are also often employed, such as polymeric cyclone columns (Zhu et al. 2016) or C18 (Wode et al. 2012; Tlili et al. 2016; Rubirola et al. 2017). However, they display very limited retention for highly polar compounds ($\log D_{O/W} < 0$). For this category of pollutants, cartridges with ionic interactions have to be privileged. Yu et al. (2017) employed a HySphere PICO C8-SE cartridge to retain strong acidic compounds (per- and poly-fluoroalkyl substances (PFASs)). Huntscha et al. (2012) developed a homemade cartridge by using several phases including HLB and ionic phases (Isolute ENV +, Strata-X-CW, Strata-X-AW).

For offline SPE, a large variety of phases are available. For the extraction of ionic compounds, support offering anionic (e.g.: MAX or WAX, *Waters*) or cationic (e.g.: MCX or WCX, *Waters*) interactions can be used. These phases were employed especially for acidic and basic compounds like pesticides (Nurmi and Pellinen 2011) or perfluorinated alkyls (Munoz et al. 2015). For online SPE, ionic phases (MCX, WCX, MAX and WAX, *Waters*) are commercially available. Contrary to the use of reverse phase SPE, ionic phases also need an acidic or a basic buffer to eluate trapped molecules. When offline SPE is employed, the elution can be easily controlled through successive washing and elution step with one or more solvents. With online SPE, the most widely used method is to employ the chromatographic gradient in backflush mode after the loading of the cartridge (Heuett et al. 2015). Chromatographic gradient is usually composed by an acidic buffer (e.g.: H₂O + 0.1 % HCOOH) and an organic solvent (acetonitrile or methanol). Thus, elution with acidic buffer is better with cartridges using weak cationic (e.g.: WCX) or strong anionic (e.g.: MAX) interactions. However, to use

cartridges offering strong cationic (e.g.: Oasis MCX) or weak anionic (e.g.: Oasis WAX) interactions, a basic buffer must be employed, which can be instrumentally difficult to use with online SPE.

The aim of this study was to evaluate the performance of online SPE for multi-residue analysis. Based on the literature, two phases, an Oasis HLB and a multilayer cartridge (Huntscha et al. 2012), were tested. A list of 58 representative model compounds of pollutants commonly determined in aquatic environments with a special focus on polar compounds was used for testing the performances of these cartridges. In the first part, direct injections were performed in order to assess the performances reached with this mode of analysis. Then, the 2 SPE cartridges were evaluated using spiked Milli-Q water. The eluting conditions for the multilayer cartridges have been investigated. The breakthrough volumes and limits of quantification were also particularly considered. The influence of the matrix (source and river water) and the pH of the extraction were finally evaluated.

2. Experimental

2.1 Chemical and materials

To analyze a wide range of environmental pollutants, several representative model compounds of pollutants commonly determined in aquatic environment have been selected. Overall, 58 compounds representing a large range of physico-chemical properties, from semi-volatiles to non-volatiles, from polar to apolar compounds were selected (Table S1). Details on the selection of model compounds are presented in Leonço et al. (2017).

All standards were purchased from Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France), BCP instrument (Irigny, France), Interchim (Montluçon, France) and LGC (Molsheim, France). The purities of the contaminants are presented Table S1.

Ammonium hydroxide solution (NH_4OH) (99.9%), ammonium acetate ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) (> 98%) and formic acid (HCOOH) (> 98%) were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). LC-MS grade water, methanol (MeOH) and acetonitrile (ACN) ($\geq 99.9\%$) were obtained from J.T. Barker (Bruges, Belgium). Ultra-pure water was supplied by a Milli-Q water purifier system from Millipore (Bedford, MA, USA). Glacial acetic acid (100%) was purchased from VWR BDH Prolabo (Leuven, Belgium).

SPE cartridges were prepared in house by filling an empty cartridge (stainless steel, 20 mm*2.1 mm, BGB Analytik, Jean de Gonville, France). Two SPE phases were used for this study: an Oasis HLB and a multilayer phase. The multilayer cartridge was composed by 10 mg of Oasis HLB and 10 mg of a mixture of Strata-X-AW from Phenomenex (Le Pecq, France) /Strata-X-CW from Phenomenex (Le Pecq, France) / Isolute ENV + (Uppsala, Sweden) (1/1/1.5) (as described in Huntscha et al. 2012). The HLB phase was positioned first exposed to the sample to trap a maximum of pollutants. The polar phases were exposed to pollutants not retained on the HLB phase.

2.2 Liquid chromatography

Analyses of organic pollutants were performed by ultra-high performance liquid chromatography (Agilent 1290) from Agilent Technologies (Massy, France). Chromatography separation was accomplished with Kinetex C18 (10 x 2.1 mm; 2.6 µm; Phenomenex, Torrance, CA, USA). The mobile phase was delivered at a flow rate of 0.3 mL/min and the injection volume was 5 µL. The column temperature was set at 40 °C. The mobile phase consisted of water with ammonium acetate buffer 10 mM (solvent A) and MeOH (solvent B). The gradient program was: 5-100 % B (from 0 to 10 min), 100 % B (from 10 to 15 min) and 5 % B (from 15.1 to 19 min).

2.3 Mass spectrometry

The LC was coupled to a triple quadrupole mass spectrometer 6460 from Agilent Technologies (Massy, France). Positive and negative electrospray ionization (ESI+ and ESI-) were used. For both polarities, the optimized electrospray ionization condition was: gas temperature 300°C, gas flow 8 L/min, nebulizer 40 psi, sheat gas heater 400°C, sheat gas flow 11 L/min, capillary ± 3 kV and nozzle voltage 0 V. Fragmentor was set depending on each compound (values are presented in the Table S2).

The triple quadrupole mass spectrometer was employed under multiple reaction monitoring mode (MRM): one target ion for quantification and one qualifier ion for confirmation (Table S2). For some substances where the MRM mode could not efficiently be used, the mass spectrometer was operated under single ion monitoring (SIM). Acquisition were performed in window mode in positive or negative mode depending on the compounds properties. Masshunter software (Agilent) was used for data acquisition and processing.

2.4 Direct injection and online SPE

For direct injection, the injection volume was set at 5 μ L.

An on-line SPE module (Agilent 1200) coupled to the LC-QqQ was used. The entire procedure was performed using a fully automated column-switching system. Extraction with Oasis HLB was performed with an acidic pH (pH=3) whereas for the multilayer cartridge, a neutral pH (pH=6.7) was used (Léonço et al. 2017). The pH of the sample was adjusted with HCOOH or NH₄OH. The procedure of the sample extraction can be decomposed in different steps. For the first step, 750 μ L were loaded onto the cartridges at 1 mL/min. Analytes were eluted onto the analytical column in back-flush mode after the gradient elution program was started. To the addition of the mobile phase (solvent A and B), a basic buffer (pH=8.9) (solvent C) and an acidic buffer (pH=2.6) (solvent D) were also used. For the elution, two chromatographic gradients were used. For the Oasis HLB cartridge, the elution was carried out by the chromatographic gradient. For the multilayer cartridge, a basic and/or acidic buffer were employed before the start of the chromatographic gradient: 100 % C (from 0 to 1 min) with a flow rate of 0.25 mL/min, 100 % D (from 1.01 to 1.50 min) with a flow rate of 0.1 mL/min, then a flow rate of 0.25 mL/min with 5-100 % B (from 1.51 to 12), 100 %B (from 12 to 17 min) and 5 % B (from 17.1 to 24 min).

2.5 Method performances

For the analysis in direct injection, standards dilutions were performed in the milliQ water. All compounds were injected directly in the LC-MS/MS system with concentrations per compounds of 10 ng/L, 100 ng/L and 1000 ng/L. The analyses were performed in triplicate.

For the extraction on the online SPE, for the preliminary tests, extraction of 900 μ L of the sample at a concentration of 1 μ g/L in milliQ water were performed.

For the determination of the breakthrough volume, several volumes were injected: 200, 300, 500, 750 and 900 μ L in MilliQ water. The analysis was performed in duplicate. For the studies of the sensitivities, a range of 1 ng/L, 10 ng/L, 100 ng/L and 1000 ng/L were injected in milliQ water. 750 μ L were extracted.

The limits of quantification (LOQ) was evaluated for each compound based on the ratio between the signal obtained for the considered substance and the surrounding noise with a $S/N > 10$.

To evaluate system contamination level and memory effects, 3 injections of milliQ water (blanks) were added between each sample.

3. Results and discussions

3.1 Direct injection

Because of the strong polarity of many environmental pollutants, the enrichment onto a solid sorbent such as in SPE can be difficult to achieve. In this view, direct injection presents the advantage that all the sample is directly introduced into the analytical system thus avoiding any loss ((Loos et al. 2010). However, while SPE methods contribute to decrease matrix effects, all the matrix is injected in the system LC-MS/MS. Large injection volume can also disturb the interaction with the chromatographic column particularly for early eluting compounds resulting in poor peak shapes. Therefore, as a limited amount of sample can only be injected, direct injection cannot generally reach the sensitivity obtained with pre-concentration methods. As the sample is directly injected in the system, the sensitivities obtained reflect the ionization potential of tested molecules in the experimental conditions used. The mobile phases were selected after an optimization performed on a previous study (data not shown). A compromise was used for spectrometric parameters considering the large variety of investigated compounds. Therefore, the response and LOQs observed could have been largely improved with a specific choice of mobile phase and spectrometric parameters.

In direct injection mode of 5 μL injection, 11 compounds displayed $\text{LOQ} < 0.1 \text{ pg}$, 21 a LOQ between 0.1 and 1 pg , 19 a LOQ between 1 and 5 pg and 5 a LOQ higher than 5 pg . All LOQs are presented in the Table table S3. This method is sensitive particularly for nicosulfuron ($\text{LOQ} = 0.01 \text{ pg}$) or carbamazepine ($\text{LOQ} = 0.03 \text{ pg}$). Some compounds, in the experimental conditions used, presented a poor sensitivity such as for trichlorfon and 1-hydroxy ibuprofen.

3.2 Online SPE

To improve sensitivity, before chromatographic analysis, samples were pre-concentrated on on-line SPE cartridges. In a previous study on SPE off-line on the same list of model pollutants (Léonço et al. 2017), it was observed that the use of HLB sorbent could not lead to the recovery of all components, particularly the very polar compounds such as metformin or asulam. Therefore, other types of retention mechanisms such as mix mode phase with ionic groups were investigated. Huntscha et al. (2012) reported the use of a multilayer cartridges including ionic groups for multiresidue online SPE analysis.

Preliminary tests were performed for both cartridges on a simple matrix, milliQ water, as to assess without matrix interferences the interactions of the various phases with the model compounds.

3.2.1 Optimization of the SPE elution for the multilayer cartridge

The commonly employed method was to use a chromatographic gradient to elute the compounds from the SPE cartridge to the analytical column (Anumol and Snyder 2014; Axel et al. 2017; Rubirola et al. 2017). This type of elution was employed in this study with the HLB cartridge.

Multilayer cartridge was homemade and composed of Oasis HLB and a mixture of Strata X AW + Strata X CW + Isolute env + (1/1/1.5). To elute the trapped components, the preliminary tests demonstrated the use of the chromatographic gradient was not sufficient to desorb the compounds with ionizable groups. Our previous investigation on SPE off line (Léonço et al. 2017), in accordance with the literature (Clara et al. 2008; Clara et al. 2009; Seifrtová et al. 2009; Petrovic et al. 2010), showed that an acidic or basic buffer is necessary to elute the ionic compounds from the ionic phases. Therefore, elution conditions were further studied for this cartridge.

3.2.1.1 Preliminary optimization with 2 separate eluting steps (binary pump)

Elution of trapped compounds was performed in 2 separate steps using a binary pump (Agilent 1290). For the first step, after the sample was charged onto the SPE cartridge, the first elution was proceeded with a basic buffer (A2: H₂O + NH₄OH), followed by a second elution with an acidic buffer (B2: H₂O + HCOOH).

Finally, a second step in “no injection” mode was performed with the chromatographic gradient running using A1 (H₂O + 10 mM ammonium acetate) and B1 (MeOH). The principal limitation of this approach was the delay time of about a few seconds between both injections potentially leading to the most polar compounds which could migrate within the analytical column.

In these conditions, the basic buffer followed by the chromatographic gradient was tested. The acidic buffer following by the chromatographic was tested too. The parameters for the elution were tested at a flow rate a 100 µL/min by varying the eluting time (without buffer and for 10, 20, 25, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 s). For the basic elution, a 60 s eluting time with a flow rate of 300 µL/min was also investigated.

For this part, polar compounds were particularly studied notably the effects of the elution on the peak shapes. Results obtained for the basic elution are displayed in Fig S1. Elution time did not produce a significant impact. Overall, most of the components could be recovered but some at very low level such as 2,4 MCPA or 2,4-D. Peak shapes of the compounds were better when they were extracted with NH₄OH at 0.3 mL/min for 60 seconds compared to the same volume of elution with a flow rate at 0.1 mL/min during 180 s.

Fig S2 and Fig S3 shows that with the use of an acidic buffer as eluent, above 30 seconds elution produces a decrease of the retention time of tested compounds. Therefore, elution time was set up below 30 seconds. For most of the compounds, the use of an acidic buffer did not improve the elution although omethoate recovery was improved by a 2-fold factor. The elution with an acidic buffer had however a negative impact in term of sensitivity for acid compounds such as MCPA or 2,4- D. In these conditions, acid component are protonated and therefore more strongly adsorbed onto the SPE phases leading to poorer recoveries.

3.2.1.2 Preliminary optimization with 1 injection (quaternary pump)

To avoid the waiting time between the two injection steps, a quaternary pump was used. As the results obtained in the previous step with the basic buffer was more significant, the comparison between the basic elution on the binary and quaternary pump was only performed with this mode of elution. The conditions which produced the best results in the

previous eluting investigation, a short eluting time (60 s) at a flow rate of 0.3 mL/min were used.

The elution using the basic then the acid elution was also carried out with the quaternary pump in order to determine if the use of both buffers improved the sensitivity. In this case, the elution was performed with the quaternary pump with a basic buffer at 0.3 mL/min during 60 s followed by an acidic buffer at 0.1 mL/min during 30 s then the chromatographic gradient.

For all these tested conditions, the LOQ were used to compare the performances obtained (Table S4).

The performance determined with the binary pump and the quaternary pump with basic elution showed that some compounds, mostly with acid groups (2,4-MCPA, 2-4 D), presented better performances with the quaternary pump. However, lower LOQs were obtained with the binary pump for omethoate and sotalol for example. Overall, none of the modes could be determined better over the other one. With both types of elution performed sequentially (with the quaternary pump using the basic then the acidic buffer), Table S4 shows that better LOQs were obtained (e.g.: for venlafaxine LOQ = 0.2 ng/L or for the sotalol LOQ = 0.6 ng/L). However, for acidic compounds such as MCPA or 2-4 D, LOQs were degraded with this elution type (e.g.: for 2-4 D, LOQ = 38 ng/L when both buffers were used whereas LOQ = 7 or 13 ng/L when only the basic buffer was employed).

Overall, for the multilayer cartridge, to elute very polar, polar and non-polar compounds, the best elution was determined with H₂O + NH₄OH at 0.3 mL/min for 60 seconds then H₂O + HCOOH at 0.1 mL/min for 30 seconds followed by the chromatographic gradient.

3.2.2 Breakthrough volume

To determine the trapping capacity of the SPE phases, the breakthrough volumes were evaluated. Tests were performed for both cartridges. For the multilayer cartridge, being more influenced by the breakthrough volume due to the ionic phases composing it, some polar compounds were added.

3.2.2.1 HLB cartridge

With this cartridge, the samples were extracted with an acidic pH (pH = 3). All tested compounds displayed an optimum breakthrough volume of 900 μL except for octinoxate, bisphenol A, estrone, NPE2O, PFOS and PFDa, which exhibited an optimum breakthrough volume of 750 μL (Fig 1).

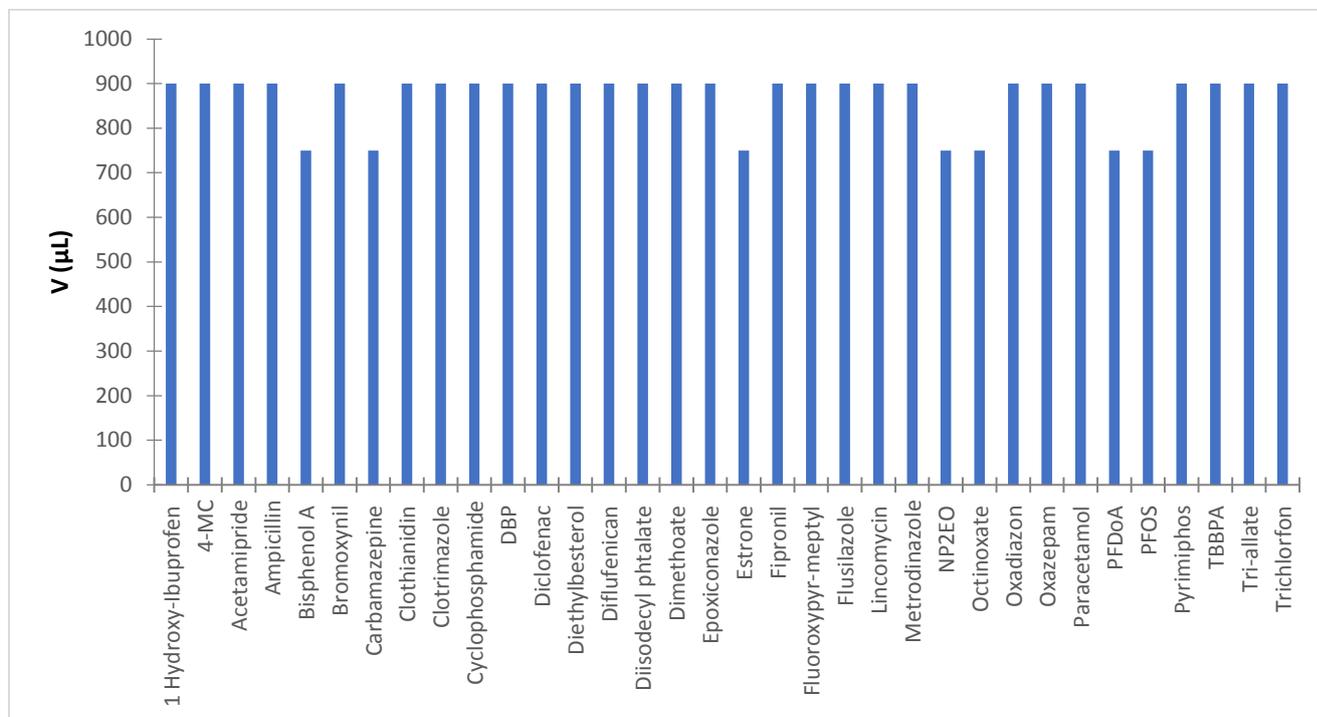
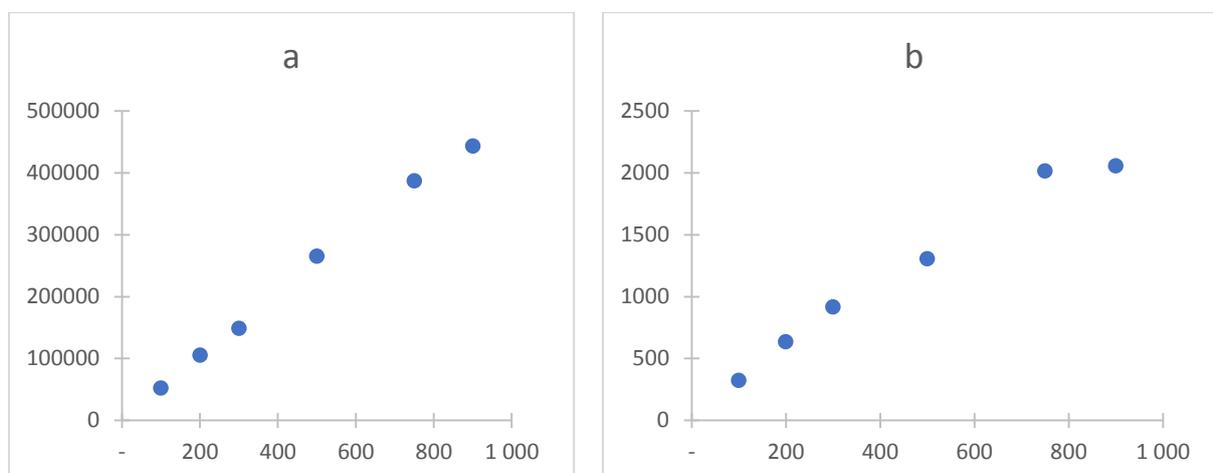


Fig 1 : Breakthrough volume of compounds extracted on a home-made cartridge Oasis HLB

Fig 2 shows some examples of breakthrough volumes. For PFOS or octinoxate, the areas increased up to 750 μL , to then reached a plateau. Moreover, for the PFOS, the points were not in line which shows that this cartridge was not adapted for this compound, and that an ionic cartridge would be better suited to retain this molecule.



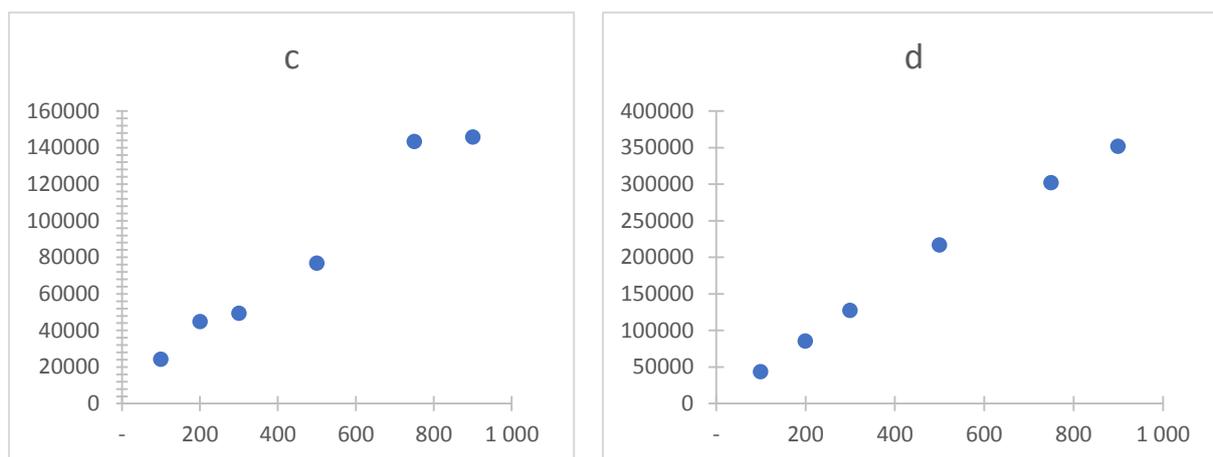


Fig 2 : Example of breakthrough volumes for diclofenac (a), octinoxate (b), PFOS (c) and cyclophosphamide (d)

3.2.2.2 Multilayer cartridge

For the extraction of the samples with the multilayer cartridge, the pH of the sample was adjusted at 6.7. Fig 3 shows that 21/58 compounds displayed an optimum breakthrough volume of 750 µL (e.g.: ritalinic acid or lincomycin) whereas 30/58 presented a breakthrough volume of 900 µL (e.g.: diclofenac or fipronil).

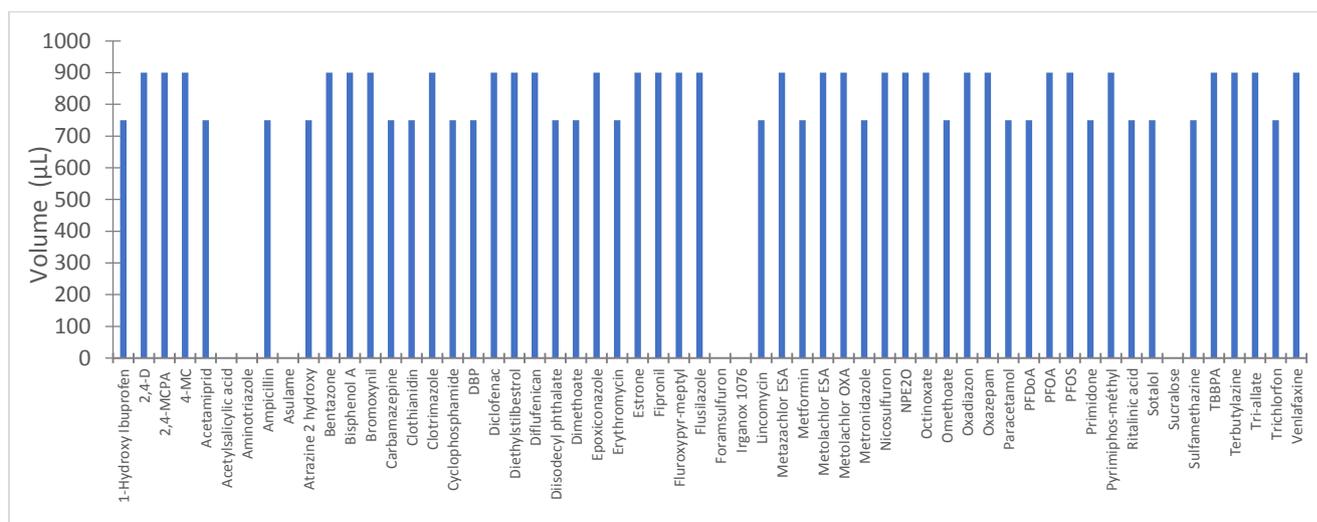


Fig 3 : Breakthrough volume of all components extracted on multilayer cartridge at pH=6.7

Fig S 5 shows an example of breakthrough volume. For paracetamol, an increase of the signal is noticed up to 750 µL to stabilize after this level. This substance is retained at first, then when all available sites are saturated, desorption occurs with this molecule being replaced by others which displayed a better affinity for the sorbents. For tri-allate, the response increased linearly for all volumes tested. It could be assumed that even larger volumes such as 1000 or 1500 µL could have been injected before the saturation is reached.

However, for large sample volume, severe desorption of poorly retained compounds such as shown for paracetamol could occur.

Some polar compounds, sucralose, aspirin, aminotriazole and foramsulfuron, were not extracted. Specific phase such as MCX for aminotriazole should be used to extract these compounds (Léonço et al. 2017). Irganox, which was the most apolar tested compound (log D = 12.5) was not eluted as MeOH did not possess sufficient eluting strength (a longer MeOH eluting time or an additional step with acetonitrile could be used in this case).

3.2.2.3 Methodological conclusion

Injecting a large volume (900 µL) improves the sensitivity. However, more matrix is injected as well. Consequently, this produces an increase of the noise resulting in smaller S/N. Moreover, some compounds with poor interactions for the sorbent start to be desorbed when a large volume such as 900 µL is used. As a result, a volume of 750 µL of sample was chosen for the extraction of both cartridges in order to compare the result obtained.

3.2.3 Performances of an online SPE for multilayer and HLB cartridges

3.2.3.1 Multilayer cartridge

The extractions were performed at pH = 6.7 (Table Table 1). Overall, 52/58 compounds were extracted with 15/58 compounds presenting a LOQ < 1 ng/L, 13/58 with a LOQ between 1 and 5 ng/L and 12/58 molecules a LOQ between 5 and 20 ng/L. For 12 pollutants, the analysis is not sensitive (LOQ > 20 ng/L). The best LOQ obtained were observed for venlafaxine (LOQ = 0.02 ng/L) or NPE2O (0.1 ng/L) and the highest for components like estrone (LOQ = 229 ng/L), BPA (LOQ=169 ng/L), trichlorfon (LOQ = 326 ng/L) or 1-hydroxy ibuprofen (LOQ = 499 ng/L). 1-hydroxy ibuprofen is a relatively polar compound but the strong source parameter (sheat gas and temperature) lead to its fragmentation in the ESI source.

This cartridge was found to be particularly adapted for the extraction of very polar compounds, especially for the strong acid alkyl perfluorated such as PFOS (LOQ = 2 ng/L), PFDoA (LOQ = 3 ng/L) or PFoA (LOQ = 9 ng/L) or for the strong basic substances such as metformin (LOQ = 7 ng/L).

Some compounds like aminotriazole or acetylsalicylic acid are not extracted (n.e) with this cartridge. Consequently, direct injection is better to analyze these compounds but LOQ are high (e.g.: 3 pg for acetylsalicylic acid).

3.2.3.2 Oasis HLB

The Oasis HLB was also tested since this phase is commonly employed for multi-residue analysis and used as a reference. Oasis HLB is composed of a co-polymer of divinylbenzene-N-vinylpyrrolidone. This support is adapted for multi-residue extraction since it can display hydrophobic and moderate lipophilic interaction. The pH can influence the extraction (Meritxell Gros et al. 2006; Hernández et al. 2007; Managaki et al. 2007). To improve the retention of compounds with an acidic group, the pH needs to be adjusted at acid level (pH = 3 in this work) so that they can be in their neutral form (Gervais et al. 2008; Robles-Molina et al. 2014).

For the elution, the chromatographic gradient was performed. Table 1 presents the LOQs obtained with the extractions of selected compounds in milliQ water. 52/58 compounds were extracted with this cartridge while 3 compounds (sotalol, aminotriazole, foramsulfuron) were not extracted (n.d). These molecules are very polar and the HLB sorbent does not display sufficient interaction to retain them. The 3 most apolar compounds (diisodecyl phthalate, irganox 1076 and DBP) were supposedly not eluted (n.el). For example, at pH=3, the log D of irganox 1076 is 12.5. In this method, 100 % MeOH during 5 min was used as part of the final step of the chromatographic gradient. With the multilayer cartridge, only DBP was eluted as DBP is less apolar (log D = 4.6) than diisodecyl phthalate (log D =9.75) and irganox. Moreover, the multilayer cartridge included only 10 mg of HLB (which is assumed to be responsible for most of the retention of the apolar compounds) compared to 20 mg for the “HLB” cartridge. The MeOH was not sufficient to elute these compounds with this amount of phase. To elute very hydrophobic molecules from the HLB phase, a more hydrophobic solvent such as acetonitrile could be used to elute these compounds.

Overall, 10 compounds displayed a LOQ < 1 ng/L, 13 with a LOQ between 1 and 5 ng/L, 13 with a LOQ between 5 and 20 ng/L. Finally, 16 molecules presented higher LOQ over 20 ng/L.

With this cartridge, best sensitivities were obtained for omethoate (LOQ = 0.06 ng/L) or diclofenac (LOQ = 0.1 ng/L). However, some compounds like trichlorfon (LOQ=158 ng/L) or PFDoA (LOQ = 141 ng/L) were not sufficiently concentrated to obtain good sensitivities. For perfluorinated alkyls compounds (PFOS, PFoA and PFDoA) which are strong acids, at pH=3, they are in an ionic state which decrease the interaction with this sorbent. In general, for compounds including an acid group such as 2-4 D, the acid pH of the sample improved the extraction and the sensitivities.

Table 1 : Limits of quantification (LOQ) for the model compounds extracted on an Oasis HLB and a multilayer cartridge in the milliQ water, source (Evian) and river (Oise) water and ratio between $LOQ_{Source}/LOQ_{MilliQ}$ and LOQ_{River}/LOQ_{MilliQ} . (750 μ L extracted). n.d : not detected. n.el : not eluted. b.p : blank problem

| Compounds | MilliQ | | Source | | River | | Ratio | | | | |
|----------------------|------------|------|-------------|------|------------|------|-----------------------------|-----|----------------------------|------|--|
| | Multilayer | HLB | On-line SPE | | Multilayer | HLB | $LOQ_{source}/LOQ_{milliQ}$ | | LOQ_{river}/LOQ_{milliQ} | | |
| | | | Multilayer | HLB | | | Multilayer | HLB | Multilayer | HLB | |
| 1-Hydroxy | 499 | 91 | | | | | | | | | |
| Ibuprofen | | | 940 | 76 | 2 839 | 337 | 1.9 | 0.8 | 5.7 | 3.7 | |
| 2.4-D | 76 | 1.5 | 36 | 2.1 | 178 | 3.4 | 0.5 | 1.4 | 2.4 | 2.2 | |
| 2.4-MCPA | 25 | 3.1 | 31 | 3.1 | 24 | 5.1 | 1.2 | 1.0 | 0.9 | 1.6 | |
| 4-MC | 12 | 26 | 15 | 27 | 33 | 50 | 1.2 | 1.0 | 2.6 | 2.0 | |
| Acetamidrid | 1.7 | 1.7 | 7.8 | 1.6 | 6.4 | 4.4 | 4.5 | 1.0 | 3.7 | 2.6 | |
| Acetylsalicylic acid | n.d | 56 | n.d | 74 | n.d | 211 | - | 1.3 | - | 3.8 | |
| Aminotriazole | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | - | - | - | - | |
| Ampicillin | 21 | 16 | 150 | 113 | 167 | 203 | 7.2 | 7.0 | 8.0 | 12.5 | |
| Asulame | 6.1 | 26 | n.d | 20 | n.d | 350 | - | 0.8 | - | 13.5 | |
| Atrazine 2 hydroxy | 0.4 | 3.7 | 5.4 | 3.6 | 0.3 | 0.3 | 15.1 | 1.0 | 0.7 | 0.1 | |
| Bentazone | 24 | 6.5 | n.d | 6.1 | 47 | 6.1 | - | 0.9 | 1.9 | 0.9 | |
| Bisphenol A | 169 | 3.4 | 467 | 24 | 447 | 171 | 2.8 | 6.9 | 2.6 | 49.6 | |
| Bromoxynil | 16 | 7.5 | 64 | 8.5 | 137 | 32 | 3.9 | 1.1 | 8.4 | 4.3 | |
| Carbamazepine | 0.5 | 0.4 | 0.9 | 0.2 | 1.7 | 2.3 | 1.9 | 0.7 | 3.6 | 6.4 | |
| Clothianidin | 2.2 | 16 | 27 | 3.0 | 36 | 84 | 12.5 | 0.2 | 16.8 | 5.3 | |
| Clotrimazole | 0.5 | 0.5 | 2.5 | 0.8 | 2.8 | 0.4 | 5.0 | 1.5 | 5.6 | 0.8 | |
| Cyclophosphamide | 0.9 | 2.8 | 53 | 2.6 | 28 | 17 | 57.7 | 0.9 | 30.4 | 6.1 | |
| DBP | 0.04 | n.el | 0.01 | n.el | 0.04 | n.el | 0.3 | 0.0 | 1.0 | - | |
| Diclofenac | 0.3 | 0.1 | 19 | 0.3 | 0.8 | 0.3 | 70.6 | 2.6 | 2.9 | 2.8 | |
| Diethylstilbestrol | 30 | 24 | 63 | 30 | 180 | 47 | 2.1 | 1.2 | 6.1 | 2.0 | |
| Diflufenican | 0.8 | 8.0 | 2.1 | 1.8 | 0.1 | 0.3 | 2.8 | 0.2 | 0.1 | 0.0 | |
| Diisodecyl phthalate | n.el | n.el | n.el | n.el | n.el | n.el | - | - | - | - | |
| Dimethoate | 4.9 | 6.4 | 49 | 6.0 | 32 | 15 | 10.0 | 0.9 | 6.6 | 2.3 | |

| Compounds | MilliQ | | Source | | River | | Ratio | | | |
|-------------------|------------|------|-------------|------|------------|------|--|------|---|------|
| | Multilayer | HLB | On-line SPE | | Multilayer | HLB | LQ _{source} /LQ _{milliQ} | | LQ _{river} /LQ _{milliQ} | |
| | | | Multilayer | HLB | | | Multilayer | HLB | Multilayer | HLB |
| Epoxiconazole | 0.8 | 1.6 | 1.7 | 1.6 | 3.1 | 3.0 | 2.1 | 1.0 | 3.8 | 1.9 |
| Erythromycin | 1.6 | 3.5 | 4.3 | 3.1 | 0.3 | 28 | 2.6 | 0.9 | 0.2 | 8.0 |
| Estrone | 229 | 51 | 546 | 54 | 896 | 92 | 2.4 | 1.1 | 3.9 | 1.8 |
| Fipronil | 0.7 | 0.9 | 0.9 | 1.0 | 0.3 | 0.5 | 1.4 | 1.1 | 0.4 | 0.5 |
| Fluroxypyr-meptyl | 3.6 | 23 | 16 | 18 | 66 | 25 | 4.3 | 0.8 | 18.3 | 1.1 |
| Flusilazole | 0.5 | 1.2 | 1.8 | 1.1 | 0.5 | 1.1 | 3.8 | 0.9 | 1.1 | 1.0 |
| Foramsulfuron | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | n.d | - | - | - | - |
| Irganox 1076 | n.el | n.el | n.el | n.el | n.el | n.el | - | - | - | - |
| Lincomycin | 0.02 | 0.3 | 0.5 | 0.4 | 1.7 | 1.2 | 26.6 | 1.6 | 97.3 | 4.3 |
| Metazachlor ESA | 13 | 1.5 | 6.1 | 3.4 | 27 | 75 | 0.5 | 2.2 | 2.1 | 49.6 |
| Metformin | 6.9 | 23 | n.e | 47 | n.e | 0.03 | - | 2.0 | - | 0.0 |
| Metolachlor ESA | 17 | 6.2 | 156 | 3.4 | 114 | 28 | 9.1 | 0.6 | 6.6 | 4.6 |
| Metolachlor OXA | 6.1 | 3.5 | 29 | 5.5 | 23 | 5.0 | 4.8 | 1.6 | 3.8 | 1.4 |
| Metronidazole | 4.1 | 3.3 | 159 | 0.8 | 173 | 29 | 39.1 | 0.2 | 42.4 | 8.8 |
| Nicosulfuron | 0.4 | 0.02 | 40 | 0.4 | 121 | 1.7 | 91.3 | 19.0 | 273.8 | 84.0 |
| NPE2O | 0.1 | 0.1 | 0.03 | 0.02 | 0.05 | 0.01 | 0.2 | 0.2 | 0.4 | 0.1 |
| Octinoxate | 17 | 43 | 24 | 63 | 122 | 65 | 1.4 | 1.5 | 7.1 | 1.5 |
| Omethoate | 0.3 | 0.06 | 30 | 0.2 | 47 | 3.8 | 112.8 | 2.7 | 175.0 | 63.5 |
| Oxadiazon | 13 | 25 | 22 | 20 | 72 | 50 | 1.7 | 0.8 | 5.7 | 2.0 |
| Oxazepam | 2.0 | 4.6 | 5.3 | 3.1 | 0.2 | 0.3 | 2.6 | 0.7 | 0.1 | 0.1 |
| Paracetamol | 8.0 | 17 | n.e | 39 | n.e | 195 | - | 2.3 | - | 11.3 |
| PFDaA | 3.1 | 141 | 15 | 97 | 22 | 46 | 4.7 | 0.7 | 6.9 | 0.3 |
| PFOA | 9.1 | 49 | 58 | 87 | 7.9 | 140 | 6.4 | 1.8 | 0.9 | 2.9 |
| PFOS | 1.9 | 22 | 3.7 | 19 | 3.0 | 19 | 2.0 | 0.8 | 1.6 | 0.8 |
| Primidone | 30 | 19 | 115 | 13 | 343 | 198 | 3.8 | 0.7 | 11.3 | 10.3 |
| Pyrimiphos-methyl | 1.5 | 5.4 | 2.8 | 3.9 | 4.7 | 14 | 1.9 | 0.7 | 3.2 | 2.6 |

| Compounds | MilliQ | | Source | | River | | Ratio | | | |
|----------------|------------|-----|-------------|-----|------------|-----|--|-----|---|-----|
| | Multilayer | HLB | On-line SPE | | Multilayer | HLB | LQ _{source} /LQ _{milliQ} | | LQ _{river} /LQ _{milliQ} | |
| | | | Multilayer | HLB | | | Multilayer | HLB | Multilayer | HLB |
| Ritalinic acid | 2.6 | 0.9 | 64 | 1.7 | 47 | 0.1 | 24.7 | 1.9 | 18.1 | 0.2 |
| Sotalol | 1.4 | n.e | 5.6 | n.e | 0.2 | n.e | 4.1 | - | 0.1 | - |
| Sucralose | n.e | 5.8 | n.e | 35 | n.e | 0.4 | - | 6.1 | - | 0.1 |
| Sulfamethazine | 1.2 | 7.0 | 264 | 7.7 | 130 | 66 | 228.9 | 1.1 | 112.5 | 9.6 |
| TBBPA | 43 | 21 | 26 | 38 | 102 | 157 | 0.6 | 1.8 | 2.3 | 7.3 |
| Terbutylazine | 2.0 | 2.0 | 2.7 | 1.5 | 5.3 | 5.9 | 1.4 | 0.8 | 2.7 | 3.0 |
| Tri-allate | 24 | 61 | 27 | 118 | 35 | 84 | 1.1 | 1.9 | 1.5 | 1.4 |
| Trichlorfon | 326 | 158 | n.e | 184 | n.e | 406 | - | 1.2 | - | 2.6 |
| Venlafaxine | 0.1 | 0.4 | 0.1 | 0.2 | 0.03 | 0.5 | 1.1 | 0.6 | 0.3 | 1.4 |

3.3 Comparison of performances obtained for the multilayer and Oasis HLB cartridges

The multilayer support provided to extend the range of extraction obtained with the Oasis HLB support but both supports were complementary. Some compounds which were not (or very little) retained by the Oasis HLB were extracted by the multilayer support. Overall, polar compounds ($\log D < 0$) were better retained by the multilayer cartridge (e.g.: lincomycin (LOQ = 0.02 ng/L), terbutylazine (LOQ = 2 ng/L) or 2-hydroxy-atrazin (LOQ = 0.4 ng/L). However, some compounds which were not extracted by the multilayer cartridge were retained by the Oasis HLB cartridge. This was particularly noticed for some molecules with $\log D > 0$ such as estrone (LOQ = 51 ng/L).

Some compounds like sucralose or acetylsalicylic acid were only extracted by the Oasis HLB whereas sotalol was only extracted by the multilayer cartridge support (Fig S 6).

Better peak shapes were observed with the Oasis HLB. This can be attributed to the elution with the chromatographic gradient compared to the 3 successive elutions (pH 8.9 (H₂O + NH₄OH), pH = 2.4 (H₂O + HCOOH) then pH = 6.5 (chromatographic gradient)) performed for the multilayer cartridge (e.g.: 2.4 D or bentazon) (Fig S 6). Some compounds, especially the hydrophilic contaminants, can be sensitive when the pH changes and the peak shape can be affected. Therefore, depending on the eluting conditions, these polar compounds can be successively anionic or cationic, then neutral which will impact the retention with the column by migrating through this support. For semi-polar compounds, it is not necessary to use the successive elutions. Thus, using the Oasis HLB then the chromatographic gradient for the elution is sufficient for this type of molecules.

Oasis HLB at pH=3 performed better than at neutral pH particularly for acid containing pollutants. At pH = 3, acidic group of MCPA is in neutral form, hence leading to a better extraction with the Oasis HLB (LOQ = 3 ng/L) in comparison of the multilayer cartridge (at pH 6.7) (LOQ = 25 ng/L).

Ritalinic acid or diclofenac are compounds which possess a basic group and an acidic group. As a result, at pH = 3, the acidic group is protonated which produce an interaction with the reverse phase (LOQ = 1 ng/L for ritalinic acid and 0.3 for diclofenac) whereas at pH = 6.7, the basic group is protonated and the acidic group is deprotonated. Thus, anionic and cationic

interactions between the molecule and the support favored the extraction with the multilayer cartridge (LOQ = 3 ng/L for ritalinic acid and 0.1 ng/L for diclofenac).

Erythromycin which is degraded at pH=3 (Seifrtová et al. 2009; Dinh et al. 2011) presented a better peak shape when it was extracted with the multilayer cartridge.

3.4 Benefit of using online SPE for ubiquitous compounds

Compared to the offline SPE, preparation steps using the online SPE are greatly reduced. The chromatographic and the online SPE instrument can be washed with the solvent of the chromatographic gradient. Therefore, influence of common contamination compounds present in laboratory environment can be lowered to a negligible level.

Use of online SPE decreased contaminations for compounds that are commonly present in laboratory environment such as surfactants, phenols or plasticizers observed with off line SPE and even direct injection. For example, on direct injection, DBP and NPE2O were detected in the sample and the blank despite of the insertion of 3 blanks between each sample. However, when these compounds were analyzed by online SPE, these molecules were not detected in the blank. Consequently, sources of contamination resulted from the LC injector. Contamination for these compounds were also noticed when SPE off line extraction was performed (Leonço et al. 2017). Therefore, online SPE allowed to analyze these pollutants indicating this method is a relevant technique for the analysis of ubiquitous substances (Fig S 7)

3.5 Matrix effect

Matrix effects were evaluated on both cartridges using a source and a river water (Tab 1). The two types of water were selected to provide an ion rich matrix (Evian water) and one representative of natural surface water with an organic matter matrix (Oise river). Limits of quantification obtained for both cartridges and matrices are presented in Table 1.

3.5.1 Source water: Evian

Fig 4 shows a summary of the results regarding level globally obtained for the limits of quantification. It demonstrates that matrix effects were observed compared to extraction in milliQ water. Matrix effects were also more important with the multilayer cartridge than the Oasis HLB. Indeed, with the multilayer cartridge, LOQ under 1 ng/L were obtained for 15

compounds with milliQ water but down to 6 with Evian water. With the oasis HLB, the number of compounds presenting a LOQ under 1 ng/L was nearly identical with 10 compounds in milliQ water to 9 in Evian water. Metformin or paracetamol were not extracted in the source water with the multilayer cartridge but could be recovered with the HLB cartridge.

As for the experiences in milliQ water, the extraction of some compounds like MCPA or 2,4-D was better with an Oasis HLB than with the multilayer cartridge. For example, LOQ of MCPA was observed at 31 ng/L in Evian when it was extracted on a multilayer support whereas its LOQ was at 3 ng/L in Evian when it was extracted on an Oasis HLB cartridge.

For the multilayer cartridge, matrix effects were not observed for some compounds. For example. The LOQ of venlafaxine is 0.1 ng/L in milliQ and Evian water. However, compared to Oasis HLB, matrix effects are more important when molecules were extracted with the multilayer cartridge. For instance, LOQ of sulfamethazine was respectively of 1 and 264 ng/L in milliQ and Evian water when it was extracted on a multilayer cartridge whereas on an Oasis HLB. its LOQ were of 7 and 8 ng/L.

To consider the influence of the matrix, the LOQ obtained in the source or the river water were divided by the LOQ obtained in MilliQ water. A correlation could be established with the chromatographic retention and the LOQ depending on the matrix extracted. Fig S 8 shows that when compounds were eluted before 8 minutes, matrix effects were more important when compounds were extracted with the multilayer cartridge compared to the Oasis HLB with ratios between the $LOQ_{source}/LOQ_{milliQ}$ higher with the multilayer cartridge. For example, omethoate ($rT = 5.7$ min) had a ratio of 113 with the multilayer cartridge compared to 3 for the Oasis HLB support. With the multilayer support, compounds which eluted before 6 min (metformin, asulam, acetycalicylic acid, paracetamol) were not detected. When these molecules were extracted with the Oasis HLB support, matrix effects were not observed in source water.

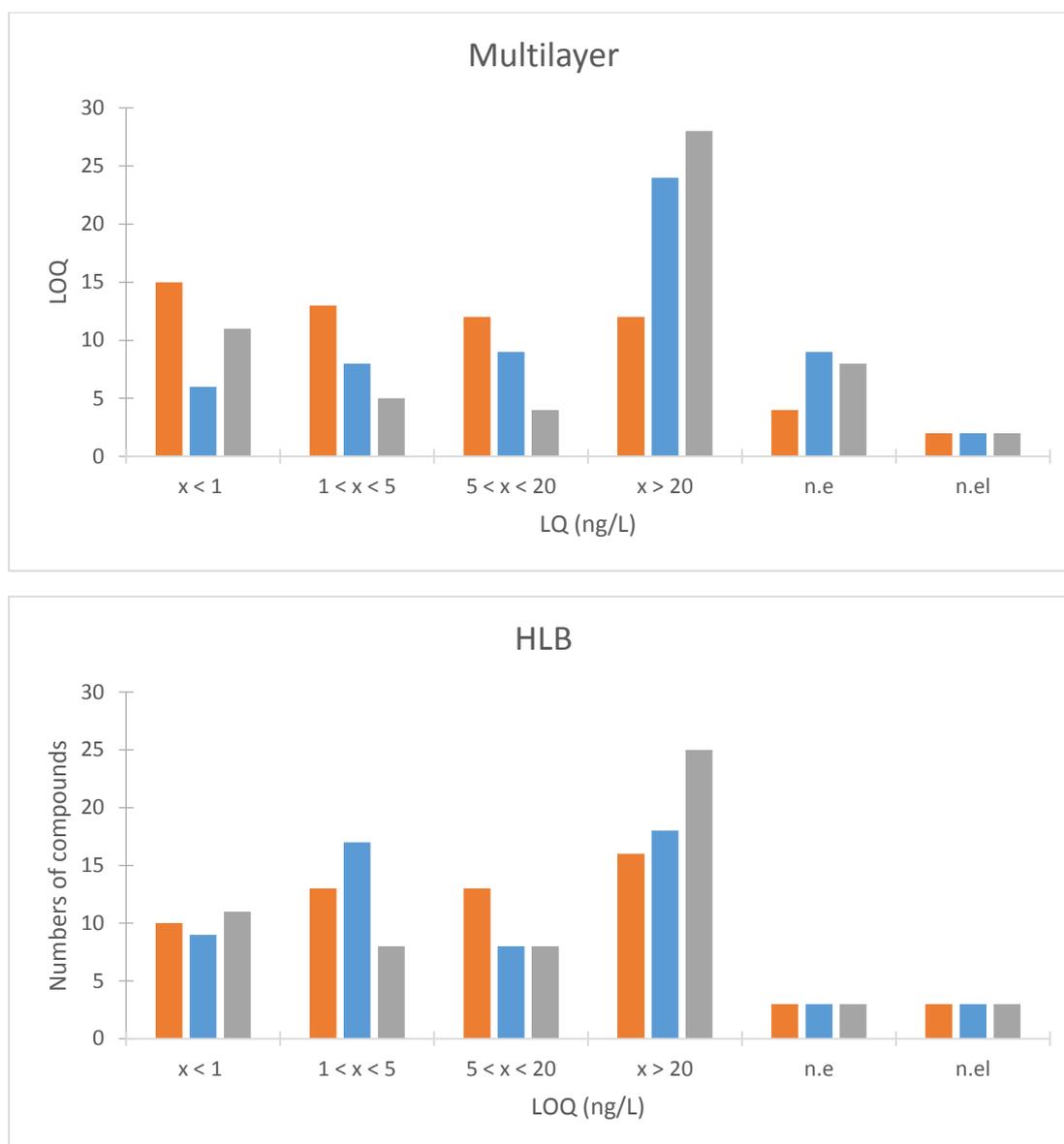


Fig 4 : Range of the limits of quantification of pollutants (n=58) extracted in milliQ water (orange), source water (blue) and river water (grey). n.e: not extracted. n.el : not eluted.

3.5.2 River water: Oise

Matrix effects were particularly noticed for extraction of pollutants in river water with LOQ increasing. When the extractions were performed on a multilayer cartridge, 11 compounds had a LOQ < 1 ng/L, 5 between 1 and 5 ng/L, 4 between 5 and 20 ng/L and 28 with a LOQ > 20 ng/L (e.g.: LOQ of lincomycin was 0.02 ng/L when extracted by the multilayer cartridge in milliQ water whereas LOQ = 2 ng/L in the river water). 8 contaminants were not extracted.

With the Oasis HLB cartridge, 11 contaminants displayed a LOQ < 1 ng/L whereas 8 had a LOQ between 1 and 5 ng/L. 8 a LOQ between 5 and 20 ng/L. Matrix effects are less

pronounced for this cartridge since 25 pollutants had a LOQ > 20 ng/L and just 3 were not extracted.

As for the experiences in Evian water, the extraction of some compounds like MCPA or 2.4-D was better with an Oasis HLB than with the multilayer cartridge. For example, LOQ of MCPA was observed at 24 ng/L in Oise when it was extracted on a multilayer support whereas its LOQ was at 5 ng/L in Oise when it was extracted on an Oasis HLB cartridge.

For the multilayer cartridge, matrix effects were not observed for some compounds. For example, as for the extraction in Evian water, the LOQ of venlafaxine is 0.1 ng/L in milliQ and 0.03 ng/L in Oise water. Compared to Oasis HLB, matrix effects are more important when molecules were extracted with the multilayer cartridge. For instance, LOQ of sulfamethazine was respectively of 1 and 130 ng/L in milliQ and Oise water when it was extracted on a multilayer cartridge whereas when it was extracted on an Oasis HLB, its LOQ were of 7 and 66 ng/L in milliQ and Oise water.

Fig 4 shows that performances degraded when compounds were extracted in an organic containing matrix (river water) compared to the MilliQ water for both tested cartridges. Indeed, fewer molecules presented low LOQ (e.g.: 11 compounds with a LOQ under 1 ng/L and 5 pollutants with a LOQ between 5 and 20 ng/L when they were extracted with the multilayer cartridge in Oise water whereas 11 molecules with a LOQ under 1 ng/L and 8 contaminants with a LOQ between 5 and 20 ng/L when they are extracted with the Oasis HLB support). Consequently, the number of compounds presenting a LOQ > 20 ng/L increased. For the multilayer cartridge, very polar molecules like metformin ($r_T = 2.05$ min) or asulam ($r_T = 2.1$ min) (corresponding to the elution in the chromatographic dead volume) were not detected. However, with the Oasis HLB support, matrix effects were less important although their detection were still at high level of concentration (e.g.: for asulam. LOQ = 26 ng/L in milliQ water. LOQ = 20 ng/L in source water and LOQ = 350 ng/L in river water).

The ratios (LOQ_{Oise}/LOQ_{milliQ}) (Fig 8) are less important when compounds were extracted in source water. For 8 molecules eluting with a retention time before 8 min (nicosulfuron ($r_T=7.7$ min)), matrix effects were more significant especially for the multilayer cartridge ratio generally over 100. With the multilayer, for some compounds (4 polar molecules) extracted before 8 min, there was a signal extinction. For molecules which elute in the dead

volume the matrix effects are more important, especially with a phase like the multilayer cartridges where the matrix is very well retained.

3.5.3 Methodological conclusion

When using online SPE where the matrix is only partially eliminated, compounds eluting early or not retained in the C18 phase were particularly impacted with as for asulame and metformin, no detection were obtained with both tested matrix for the multilayer cartridge.

This cartridge is a suited blend of sorbent to retain ionic compounds but, due to its generalist nature, it does not provide any extensive purification effect of the matrix. Therefore, most of the potential interferences were also extracted and injected in LC-MS/MS. Therefore, during the extraction with the SPE, the matrix component could interfere with the target substances and compete with them for the sorbent pore sites. This was particularly the case for compounds with acid or basic groups as those usually are more influenced with matrix effect (Huntscha et al. 2012). For the Oasis HLB cartridge, as the interactions are based on ionic interactions, the effect of the matrix is less pronounced which resulted to better performances than the multilayer cartridges in some cases.

4 Conclusion

SPE on line and direct injection were evaluated for the analysis of a large range of pollutants in 3 matrices (milliQ, source and river water).

Direct injection presented the largest detection range but limitations in terms of sensitivity were observed.

Better eluting conditions were determined for the multilayer cartridges using a quaternary pump and an elution with a basic buffer followed by an acid buffer.

Both HLB and multilayer cartridges allowed to extract most of the compounds selected in MilliQ water with LOQ ranging mostly between 0.1 and 20 ng/L. For more complex water composition, matrix effects were noticed particularly for the most polar compounds and the multilayer cartridge.

For an application on environmental samples, both cartridges offer complementary advantages. They can therefore both be used to obtain a more representative view of the

composition of a sample. However, limitations remain for the most polar compounds in complex matrices and only direct injection appears suited in this case.

5 Reference

Anumol T, Snyder SA. 2014. Rapid analysis of trace organic compounds in water by automated online solid-phase extraction coupled to liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Talanta* 132:77–86.

Axel M, Ewelina K, Jenny-Maria B, Leif K. 2017. An online SPE LC-MS/MS method for the analysis of antibiotics in environmental water. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24:8692–8699.

Benijts T, Dams R, Lambert W, De Leenheer A. 2004. Countering matrix effects in environmental liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry water analysis for endocrine disrupting chemicals. *J. Chromatogr. A* 1029:153–159.

Buchberger WW. 2010. Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment. *J. Chromatogr. A* 1218:603–618.

Clara M, Gans O, Weiss S, Sanz-Escribano D, Scharf S, Scheffknecht C. 2009. Perfluorinated alkylated substances in the aquatic environment: An Austrian case study. *Water Res.* 43:4760–4768.

Clara M, Scheffknecht C, Scharf S, Weiss S, Gans O, Clara AM. 2008. Emissions of perfluorinated alkylated substances (PFAS) from point sources—identification of relevant branches. *Water Sci. Technol.* 58:59–66.

Cotton J, Leroux F, Broudin S, Poirel M, Corman B, Junot C, Ducruix C. 2016. Development and validation of a multiresidue method for the analysis of more than 500 pesticides and drugs in water based on on-line and liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *Water Res.* 104:20–27.

Dinh QT, Alliot F, Moreau-Guigon E, Eurin JJ, Chevreuril M, Labadie P, Tuc Dinh Q, Alliot F, Moreau-Guigon E, Eurin JJ, Chevreuril M, Labadie P. 2011. Measurement of trace levels of antibiotics in river water using on-line enrichment and triple-quadrupole LC-MS/MS. *Talanta* 85:1238–1245.

Domínguez-Romero JC, García-Reyes JF, Molina-Díaz A. 2014. Comparative evaluation of seven different sample treatment approaches for large-scale multiclass sport drug testing in urine by liquid chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1361:34–42.

Gervais G, Brosillon S, Laplanche A, Helen C. 2008. Ultra-pressure liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry for multiresidue determination of pesticides in water. *J. Chromatogr. A* 1202:163–172.

Gracia-Lor E, Martínez M, Sancho J V, Peñ Uela G, Lix F, Ndez H. 2012. Multi-class determination of personal care products and pharmaceuticals in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 99:1011–1023.

Grignon C, Venisse N, Rouillon S, Brunet B, Bacle A, Thevenot S, Migeot V, Dupuis A. 2016. Ultrasensitive determination of bisphenol A and its chlorinated derivatives in urine using a high-throughput UPLC-MS/MS method. *Anal. Bioanal. Chem.* 408:2255–2263.

Gros M, Petrovi M, Barceló D. 2006. Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) for screening and

trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70:678–690.

Hernández F, Sancho J V, Ibáñez M, Guerrero C. 2007. Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS. *Anal. Chem.* 26:466–485.

Heuett N V., Ramirez CE, Fernandez A, Gardinali PR. 2015. Analysis of drugs of abuse by online SPE-LC high resolution mass spectrometry: Communal assessment of consumption. *Sci. Total Environ.* 511:319–330.

Huntscha S, Singer HP, McArdell CS, Frank CE, Hollender J. 2012. Multiresidue analysis of 88 polar organic micropollutants in ground, surface and wastewater using online mixed-bed multilayer solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1268:74–83.

Léonço D, Chatellier C, Beaumont J, Devier M-H, Lestremau F, Budzinski H. 2017. Evaluation of off-line solid phase extraction approaches for the pre-concentration of a wide range of environmental pollutants in water matrices (in preparation).

Loos R, Locoro G, Comero S, Contini S, Schwesig D, Werres F, Balsaa P, Gans O, Weiss S, Blaha L, Bolchi M, Gawlik BM. 2010. Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Res.* 44:4115–26.

Managaki S, Murata A, Takada H, Tuyen BC, Chiem NH. 2007. Distribution of Macrolides, Sulfonamides, and Trimethoprim in Tropical Waters: Ubiquitous Occurrence of Veterinary Antibiotics in the Mekong Delta. *Environ. Sci. Technol.* 41:8004–8010.

Munoz G, Giraudel JL, Botta F, Lestremau F, Devier M-H, Budzinski H, Labadie P. 2015. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: A French nationwide survey. *Sci. Total Environ.* 517:48–56.

Net S, Rabodonirina S, Sghaier R Ben, Dumoulin D, Chbib C, Tlili I, Ouddane B. 2015. Distribution of phthalates, pesticides and drug residues in the dissolved, particulate and sedimentary phases from transboundary rivers (France–Belgium). *Sci. Total Environ.* 521–522:152–159.

Nurmi J, Pellinen J. 2011. Multiresidue method for the analysis of emerging contaminants in wastewater by ultra performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1218:6712–6719.

Petrovic M, Farré M, de Alda ML, Perez S, Postigo C, Köck M, Radjenovic J, Gros M, Barcelo D. 2010. Recent trends in the liquid chromatography-mass spectrometry analysis of organic contaminants in environmental samples. *J. Chromatogr. A* 1217:4004–4017.

Robles-Molina J, Lara-Ortega FJ, Gilbert-López B, García-Reyes JF, Molina-Díaz A. 2014. Multi-residue method for the determination of over 400 priority and emerging pollutants in water and wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1350:30–43.

Rubirola A, Boleda R, Galceran T. 2017. Multiresidue analysis of 24 Water Framework Directive priority substances by on-line solid phase extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometry in environmental waters. *J. Chromatogr. A* 1493:64–75.

Seifrtová M, Nováková L, Lino C, Pena A, Solich P. 2009. An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. *Anal. Chim. Acta* 649:158–179.

Shoemaker JA. 2016. Development and Multi-laboratory Verification of US EPA Method 543 for the Analysis of Drinking Water Contaminants by Online Solid Phase Extraction-LC-MS-MS. *J. Chromatogr. Sci.* 54:1532–1539.

Stoob K, Singer HP, Goetz CW, Ruff M, Mueller SR. 2005. Fully automated online solid phase extraction coupled directly to liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Quantification of sulfonamide antibiotics, neutral and acidic pesticides at low concentrations in surface waters. *J. Chromatogr. A* 1097:138–147.

Tlili I, Caria G, Ouddane B, Ghorbel-Abid I, Ternane R, Trabelsi-Ayadi M, Net S. 2016. Simultaneous detection of antibiotics and other drug residues in the dissolved and particulate phases of water by an off-line SPE combined with on-line SPE-LC-MS/MS: Method development and application. *Sci. Total Environ.* 563–564:424–433.

Togola A, Baran N, Coureau C. 2014. Advantages of online SPE coupled with UPLC/MS/MS for determining the fate of pesticides and pharmaceutical compounds. *Anal. Bioanal. Chem.* 406:1181–1191.

Vieno N, Tuhkanen T, Kronberg L. 2007. Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland. *Water Res.* 41:1001–1012.

Wode F, Reilich C, van Baar P, Dünnebier U, Jekel M, Reemtsma T. 2012. Multiresidue analytical method for the simultaneous determination of 72 micropollutants in aqueous samples with ultra high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1270:118–26.

Yao B, Lian L, Pang W, Yin D, Chan SA, Song W. 2016. Determination of illicit drugs in aqueous environmental samples by online solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 160:208–215.

Yu CH, Patel B, Palencia M, Fan Z (Tina). 2017. A sensitive and accurate method for the determination of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in human serum using a high performance liquid chromatography-online solid phase extraction-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1480:1–10.

Zhu W, Yang J, Wang Z, Wang C, Liu Y, Zhang L. 2016. Rapid determination of 88 veterinary drug residues in milk using automated TurborFlow online clean-up mode coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 148:401–411.

Partie 4 : Comparaison des performances des méthodes développées en SPE hors ligne et SPE en ligne

1 Sensibilité

Les sensibilités relevées pour les 2 méthodes d'extraction, SPE hors ligne et en ligne, ont été comparées pour les cartouches Oasis HLB et multicouche pour la matrice d'eau de l'Oise (Figure 88). Les valeurs obtenues en SPE hors/en ligne sont présentées en Annexe 8 et Annexe 9.

Remarque : les deux spectromètres de masse utilisés pour les manipulations en SPE en ligne et hors ligne n'ont pas été les mêmes. Pour rappel, en SPE en ligne, l'Agilent 6460 a été employé ; tandis qu'en SPE hors ligne, c'est l'Acquity TQ Detector de Waters qui a été utilisé. Les comparaisons des sensibilités entre ces deux méthodes d'extraction sont donc à relativiser.

La Figure 88 affiche que 43 % des contaminants présentent de meilleures sensibilités lorsqu'ils ont été extraits en SPE en ligne dans l'eau de l'Oise, par rapport à leur extraction en SPE hors ligne. Pour 30 % des composés, c'est l'inverse qui se produit. Des composés très apolaires, tels que l'irganox ou le diisodécyl phtalate, ont été uniquement extraits en SPE hors ligne. En effet, en SPE en ligne, l'utilisation du MeOH en tant que phase mobile n'est pas suffisante pour éluer ce type de molécule (Ballesteros et al. 2006). Un gradient suffisamment long en solvant organique aurait permis d'éluer plus facilement les composés très apolaires. Un solvant plus apolaire, tel que l'ACN avec de l'acétate d'éthyle, aurait pu également favoriser une meilleure élution (Blount et al. 2000). En SPE hors ligne, l'élution des composés apolaires est mieux maîtrisée, soit par la quantité de solvant employée (ex : 2 * 5 mL lorsque l'Oasis HLB a été utilisée), soit par la nature du solvant d'élution [ex : MeOH/acétate d'éthyle (50/50) lorsque la cartouche multicouche a été employée].

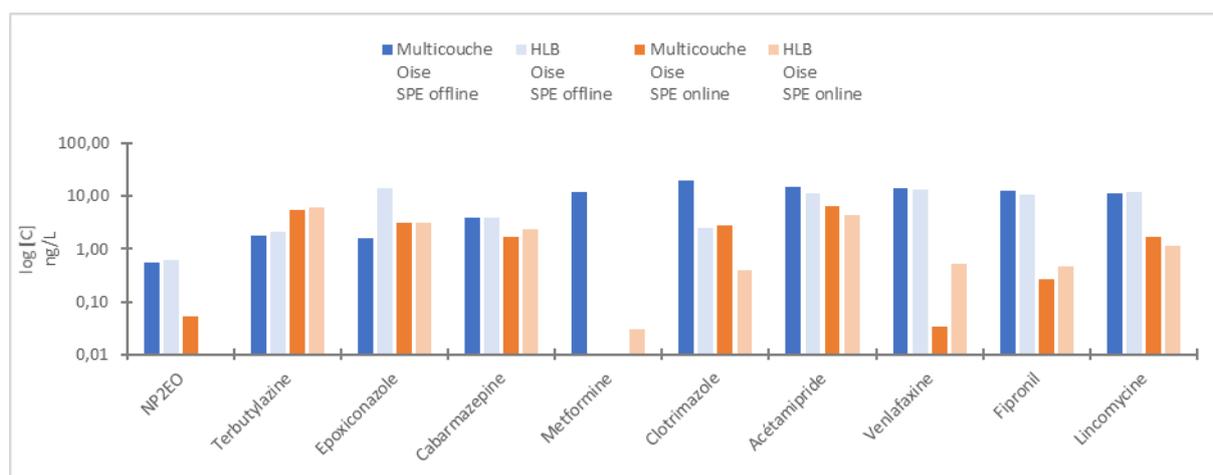
Le thiram, la ciprofloxacine, l'aminotriazole et l'acide monochloroacétique n'ont pas été extraits dans l'eau de l'Oise, quelles que soient les méthodes SPE et les cartouches utilisées. Des méthodes et des protocoles de préconcentration spécifiques doivent être employés pour leur extraction. L'injection directe représente la seule alternative dans une optique d'analyse multirésidus mais au prix d'une faible sensibilité.

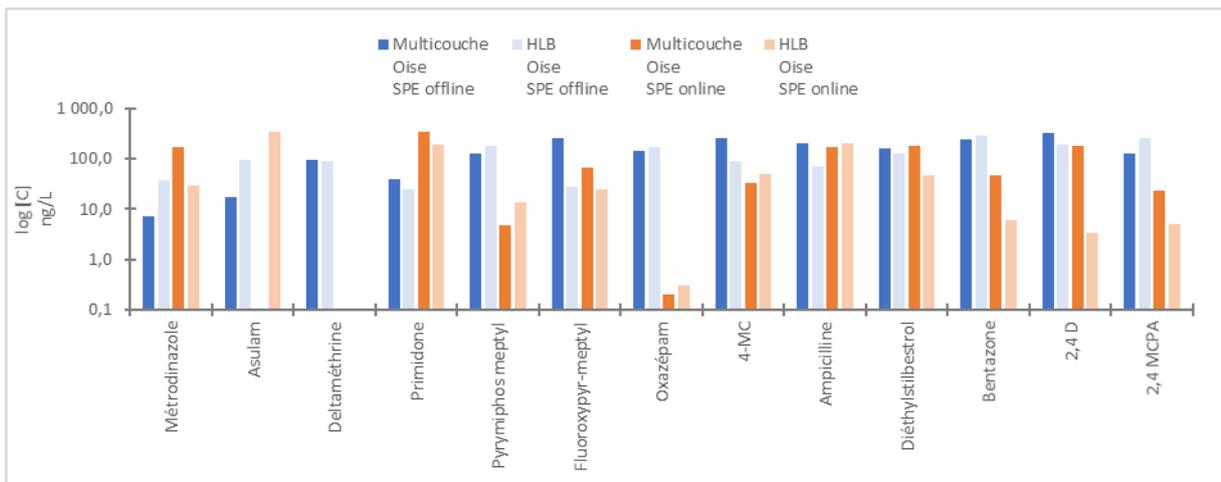
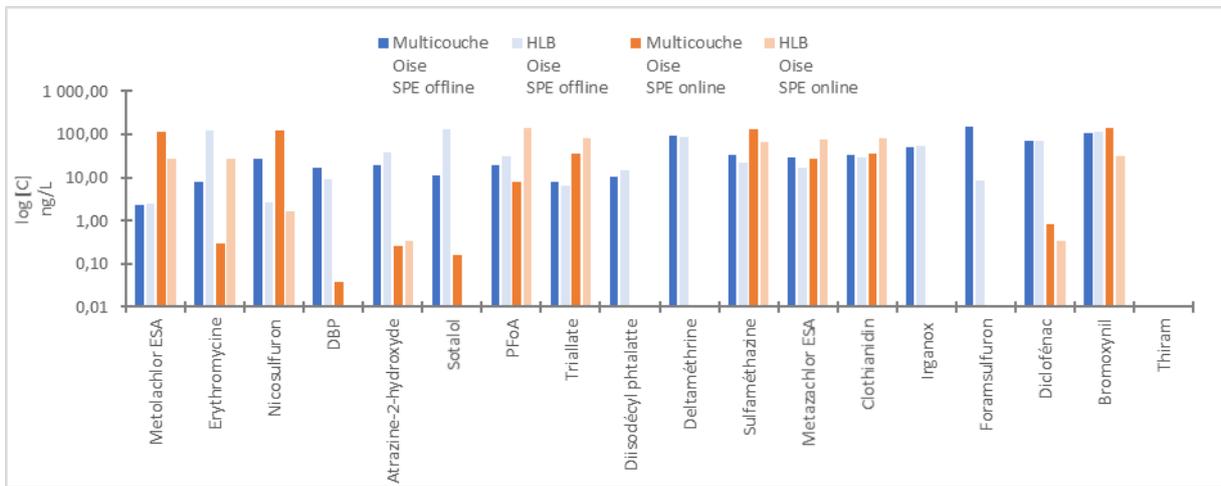
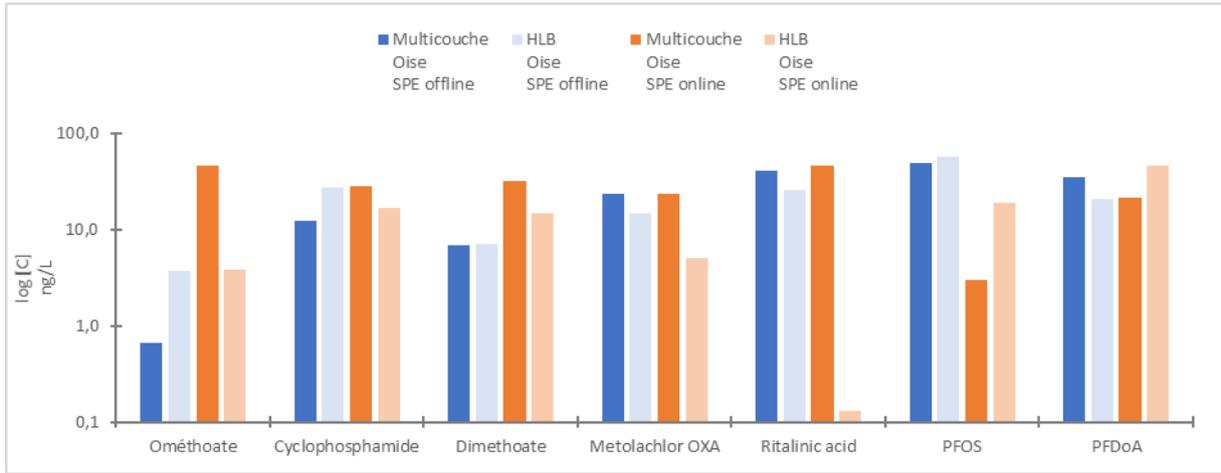
Trois composés ont été uniquement détectés avec une analyse par SPE hors ligne à cause de :

- ✓ leurs conditions analytiques. La metformine et le dicamba étaient normalement analysés et retenus par la méthode HILIC mais en SPE en ligne, seule la colonne C18 a été employée.
- ✓ la géométrie de la source d'ionisation. La deltaméthrine a été analysée en LC-QqQ sur un TQD (*Waters*), tandis qu'en SPE en ligne, la géométrie de la source n'a pas permis son analyse sur l'Agilent 6460. La source « Agilent jet stream » emploie un « sheat gaz » qui permet de focaliser les ions autour d'un gaz chauffé [400 °C en ESI (+) et (-)]. Ce gaz peut cependant accentuer la fragmentation des molécules sensibles.

Le foramsulfuron a été également extrait uniquement en SPE hors ligne sur les deux cartouches. Ainsi, les méthodes de SPE en ligne ne paraissent pas adaptées à l'analyse de ce composé.

Aucune différence significative n'est observée entre la SPE hors ligne et en ligne pour 13 % des composés, quelle que soit la cartouche employée.





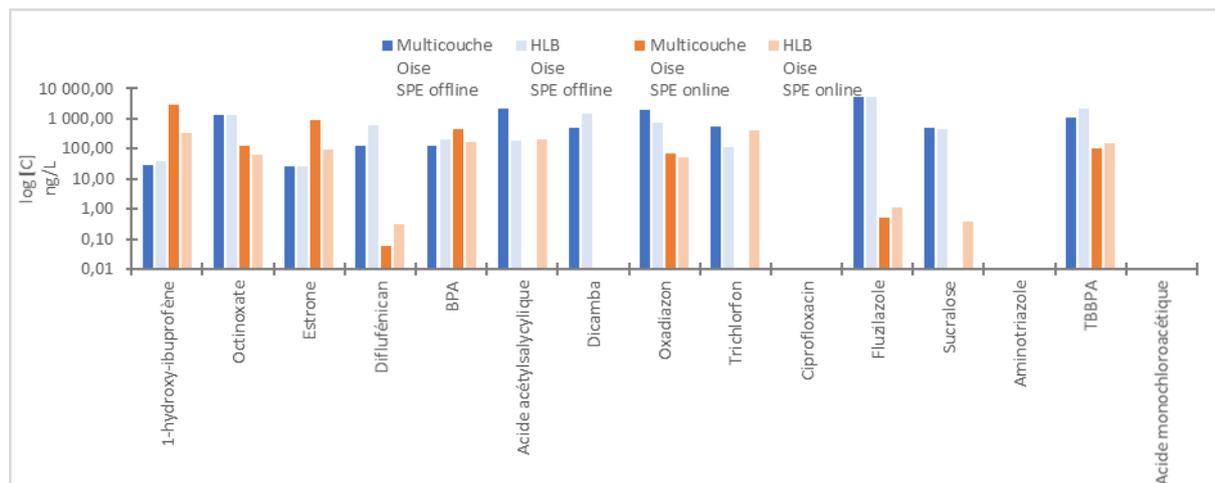


Figure 88 : Comparaison des sensibilités obtenues sur la cartouche multicouche en SPE hors ligne et en ligne sur l'eau de l'Oise sur les cartouches Oasis HLB et multicouche

Cas des composés ubiquistes

Pour des composés ubiquistes tels que le NPE2O, le bisphénol A, le PFOS, le DBP, la SPE en ligne peut être une technique alternative pour réduire les phénomènes de contamination (publication n°2). Le fait d'avoir une préparation réduite a permis d'analyser ces molécules omniprésentes, pour lesquelles de la contamination était observée lors d'injection directe et en SPE hors ligne.

Par exemple, l'analyse des blancs d'eau milliQ du DBP (Figure 89) par SPE hors ligne a montré que l'aire des blancs était du même ordre de grandeur que celle des échantillons. Cette contamination pourrait provenir de l'atmosphère du laboratoire, des tubulures dans l'automate SPE, de tout autre matériel ou solvant (solvants de conditionnement ou d'élution) utilisés lors de la préparation par SPE hors ligne.

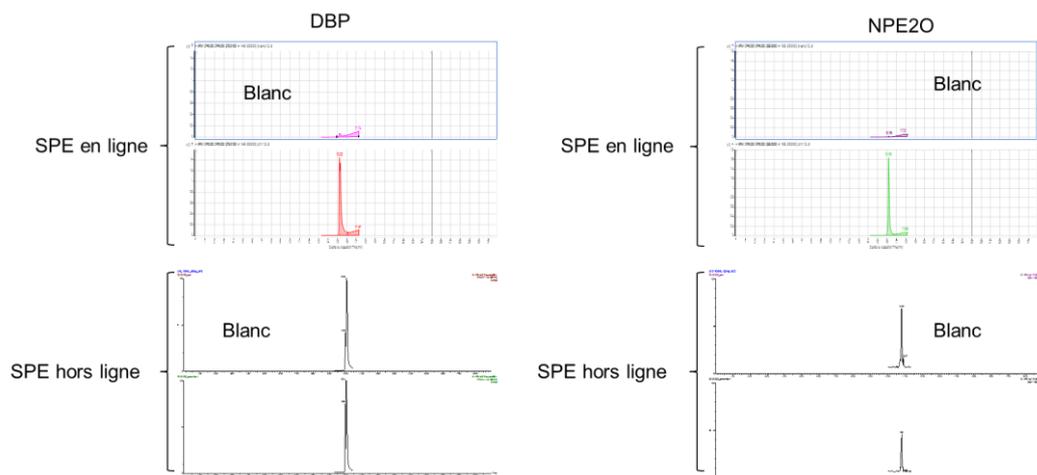


Figure 89 : comparaison des chromatogrammes obtenus en SPE hors ligne et en ligne

Le même constat peut être supposé pour le diisodécyl phtalate et l'irganox qui ont été abondamment détectés dans les blancs par SPE hors ligne. N'ayant pas pu être élués en SPE en ligne, l'augmentation du temps d'élution par le solvant MeOH permettrait de pouvoir vérifier cette hypothèse.

2 Comparaison des performances sur la cartouche Oasis HLB entre l'eau milliQ et de rivière (Oise)

Un ratio ou facteur (F) a été calculé entre les sensibilités acquises dans l'eau rivière et celles dans l'eau milliQ (en SPE en ligne et hors ligne sur la cartouche Oasis HLB).

La Figure 90 montre que les effets matriciels (évalués par le ratio décrit précédemment) ont été observés. En SPE hors ligne, 32 % des contaminants ont une valeur de sensibilité similaire lorsqu'ils ont été extraits dans l'eau de rivière (par rapport à l'eau milliQ) ; 35 % augmentent d'un facteur inférieur à 10 ; pour 8 % d'entre eux, aucune détection n'est observée ; enfin, 22 % présentent une valeur de sensibilité plus faible quand ils ont été extraits dans l'eau de rivière (par rapport à l'eau milliQ).

En SPE en ligne, lorsque des composés ont été extraits dans l'eau de rivière, (par rapport à l'eau milliQ), 14 % ont une valeur de sensibilité semblable ; 44 % ont un facteur d'augmentation inférieur à 10 et 11 %, un facteur supérieur à 10. 18 % des composés n'ont pas été détectés en SPE en ligne avec ce type de cartouche. En outre, 13 % des contaminants ont une valeur de sensibilité plus faible lorsqu'ils ont été extraits dans l'eau de rivière par rapport à l'eau milliQ.

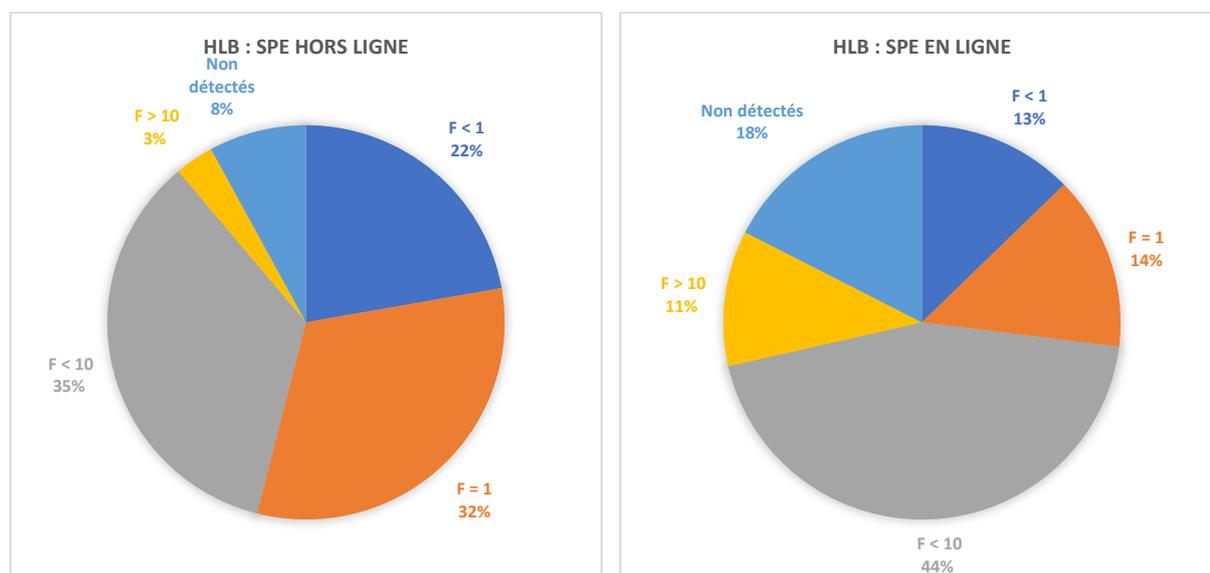


Figure 90 : Représentation des facteurs (F) obtenus entre la SPE hors ligne et en ligne sur la cartouche Oasis HLB entre les LQ estimées pour l'eau de MilliQ et l'eau de rivière.

La Figure 91 représente le facteur F en fonction des composés. Globalement, les effets matriciels sont légèrement plus significatifs en SPE en ligne. A titre d'exemple, le ratio de la sulfaméthazine est de 10 en SPE en ligne tandis qu'en SPE hors ligne, aucun effet matriciel

n'a été observé. Ceci confirme que la SPE en ligne est une méthode qui concentre les composés d'intérêt mais également la matrice, laquelle est réinjectée en mode « backflush » vers la colonne analytique. Ceci engendre une augmentation du bruit de fond.

En SPE hors ligne, lors de l'élution des composés sur la cartouche SPE, la matrice n'est que partiellement récupérée, et de ce fait, injectée dans le système d'analyse. Le bruit de fond est alors nettement inférieur.

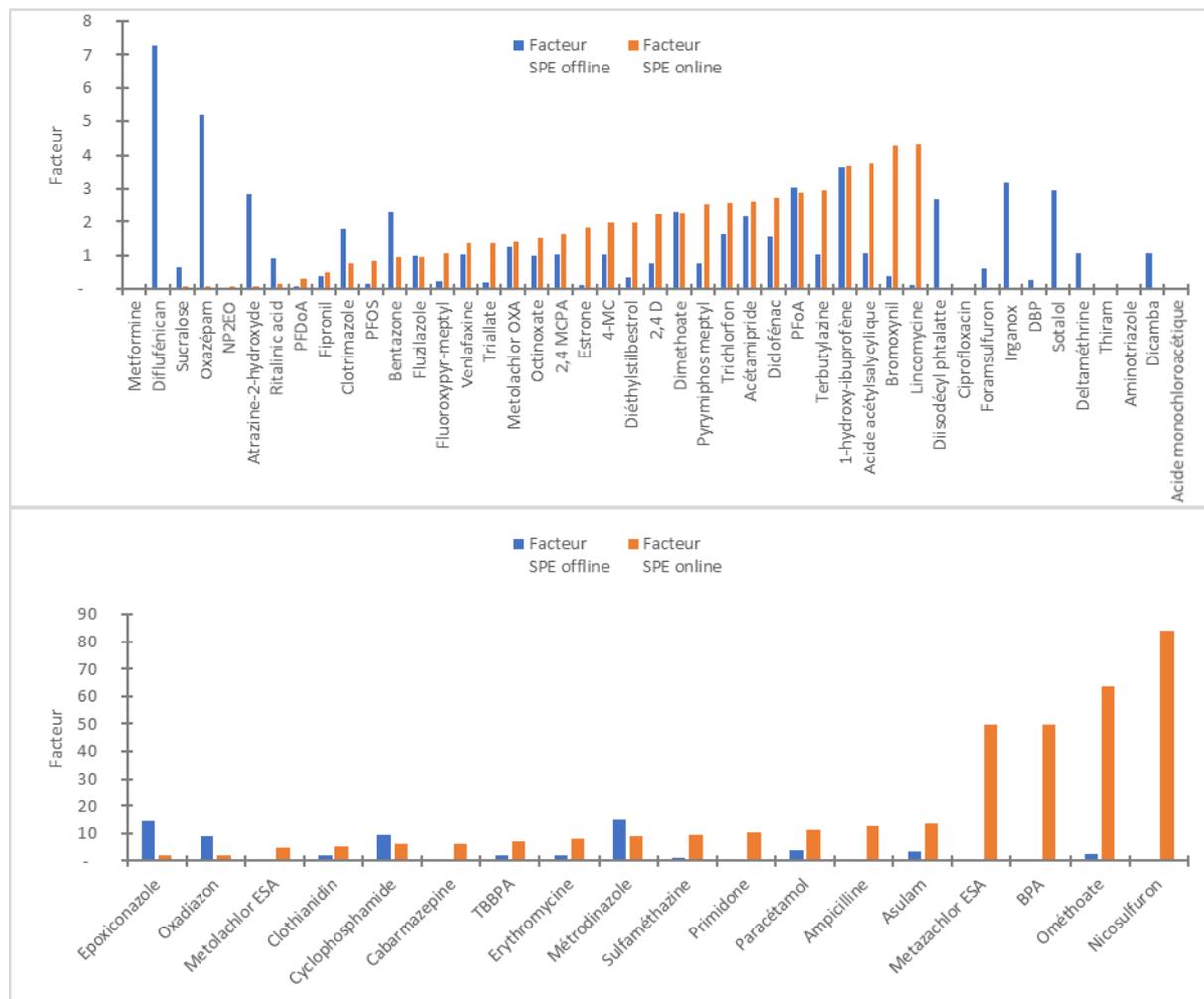


Figure 91 : Facteur entre les sensibilités obtenues entre l'eau milliQ et l'eau de l'Oise pour les analyses par SPE hors ligne et en ligne avec la cartouche Oasis HLB

3 Comparaison des performances sur la cartouche multicouche entre l'eau milliQ et de rivière (Oise)

Un ratio ou facteur (F) a également été calculé entre les sensibilités obtenues dans l'eau de rivière (Oise) et celles acquises dans l'eau milliQ en SPE (en ligne et hors ligne sur la cartouche multicouche).

La Figure 92 met en évidence que dans les conditions testées, en SPE en ligne, 11 % des contaminants ont une valeur de sensibilité inférieure lorsqu'ils ont été extraits dans l'eau de l'Oise par rapport à une extraction dans l'eau milliQ ; 24 % ont une valeur de sensibilité qui augmente d'un facteur situé entre 2 et 4 par rapport à l'eau milliQ ; 22 % ont une augmentation de la valeur de sensibilité d'un facteur situé entre 5 et 20 ; 3 % avec un facteur situé entre 20 et 50 et 6 % avec un facteur au-dessus de 50. Par ailleurs, 6 % présentent une extinction de signal suite à des effets matriciels. Aucun changement significatif n'a été observé pour 10 % des contaminants. 18 % des substances n'avaient pas été détectées en SPE en ligne, quelle que soit la matrice.

En SPE hors ligne, les effets de matrices semblent moins importants car l'augmentation de sensibilité en eau de l'Oise est inférieure à 10 pour tous les composés, sauf pour l'octinoxate (facteur = 53) et l'acide acétyle salicylique (facteur = 15). Des effets matriciels n'ont pas été observés.

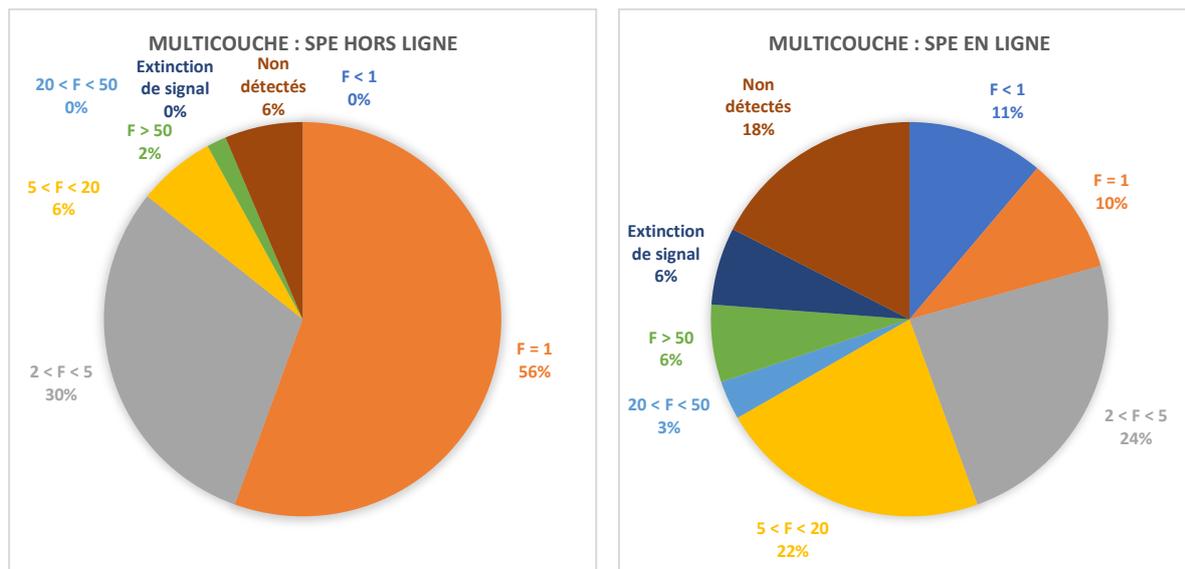


Figure 92 : Représentation des facteurs F entre la SPE hors ligne et en ligne sur la cartouche multicouche entre les LQ estimées pour l'eau de MilliQ et l'eau de rivière.

Le facteur F en fonction des composés est présenté Figure 93. Comme souligné auparavant, des effets matriciels beaucoup plus élevés sont notables avec la cartouche multicouche en SPE en ligne, car la matrice est abondamment piégée sur cette cartouche et directement injectée vers la colonne chromatographique.

La présence de substances organiques et de la matrice peut réduire l'intensité du signal, voir provoquer des extinctions de signal (Benijts et al. 2004). De ce fait, une étape de rinçage, après le chargement de l'échantillon sur la cartouche, peut être envisagée (Anumol and Snyder 2014). Dans cet article, 2*0,85 µL avait été chargé sur une cartouche PLRP et 4 mL d'une phase mobile composée de 5% d'ACN et de 0,1 % d'acide acétique a été utilisé pour rincer la cartouche. Dans cette étude, 34 composés pharmaceutiques, pesticides, hormones ou produits de soin corporel ont été extraits. Les niveaux de sensibilité obtenus par leur méthode offrent des résultats très satisfaisants. Cependant, leurs LQ ont été calculées dans l'eau milliQ. Il aurait donc été intéressant d'avoir accès aux LQ estimées dans les eaux environnementales.

Un autre groupe a inclus une étape de rinçage après le chargement de la cartouche par 10 mL d'échantillon contenant 24 pesticides, stéroïdes, produits pharmaceutiques, antibiotiques et filtres UV (Rubirola et al. 2017). 1,5 mL d'eau milliQ était utilisé lors de l'étape de rinçage. Grâce à cette dernière (qui élimine une partie de la matrice) et à l'étape de concentration (le volume chargé est de 10 mL), les valeurs de sensibilité obtenues en

extrayant les échantillons d'une eau de STEP ou de surface sont très faibles. De ce fait, cette procédure a été très bénéfique pour ces travaux.

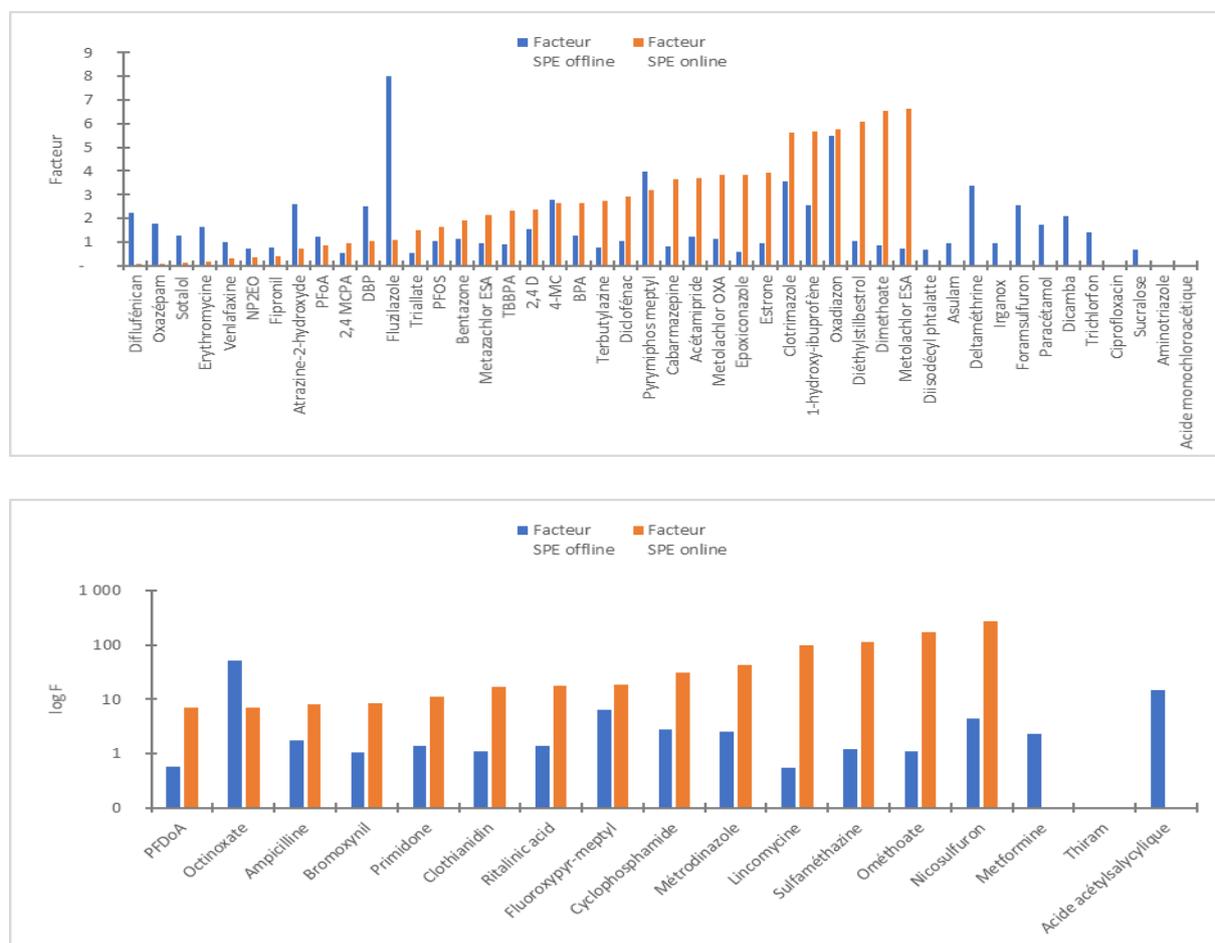


Figure 93 : Facteur entre les sensibilités obtenues entre l'eau milliQ et l'Oise pour la SPE hors ligne et en ligne sur la cartouche multicouche

4 Bilan de la comparaison des méthodes en SPE hors ligne et en ligne

Les travaux réalisés en SPE hors ligne ont montré que pour des analyses multirésidus, cette technique de préparation est mieux adaptée, notamment avec l'utilisation d'une cartouche multicouche. Cette technique offre une plus grande flexibilité concernant les étapes de préparation. Le volume de phases (ou le volume de reprise des extraits) peut être plus facilement adapté aux échantillons afin de pouvoir viser des seuils plus bas.

Bien que la SPE en ligne est un système qui a été employé pour l'analyse multirésidus d'un grand nombre de 500 pesticides (Cotton et al. 2016), ce système apparaît moins adapté que la SPE hors ligne pour des analyses multirésidus multi-classe (pesticides, produits pharmaceutiques, plastifiants, alkyles perfluorés, filtre UV, surfactants...) visant l'extraction d'un grand nombre de composé. Si l'automatisation réduit les étapes de préparation d'échantillon - et donc constitue un avantage pour l'analyse des substances ubiquistes - le fait d'avoir une moins bonne maîtrise sur les conditions d'élution fait que des effets matriciels plus importants sont constatés. De plus, l'élution sur une cartouche multicouche nécessite des éluants qui sont différents des phases mobiles standards, ce qui implique une contrainte instrumentale plus forte (nécessité de disposer d'une pompe quaternaire supplémentaire pour pouvoir réaliser une élution basique, acide, puis par le gradient chromatographique). Cela implique également que la colonne chromatographique couplée au système SPE peut être partiellement soumise à ces conditions d'élution (basique + acide) et la détériorer plus rapidement.

En somme, pour des analyses multirésidus multi-classe, la SPE hors ligne faisant appel à une cartouche multicouche peut être employée. Cependant, dans une optique d'analyse non-ciblée, où il est plus difficile de distinguer si un composé détecté provient de l'échantillon ou de la contamination du laboratoire, la SPE en ligne, mise en œuvre pour des raisons pratiques avec une cartouche HLB, semble constituer une alternative intéressante pour l'analyse des composés ubiquistes.

Chapitre 4 : Développements en LC-QTOF et application des méthodes à de l'analyse non ciblée

| | |
|---|------------|
| Partie 1 : Participation à l'essai inter-laboratoire NORMAN | 294 |
| 1 Analyse de la solution étalon fournie par NORMAN..... | 296 |
| 2 Extraction des eaux de rivière par SPE hors ligne et analyse par LC/QTOF | 300 |
| 2.1 Extraction de l'extrait de rivière non dopée | 300 |
| 2.2 Extraction de l'extrait de rivière dopée | 301 |
| 3 Bilan des essais | 304 |
| Partie 2 : Développements chromatographiques en LC-QTOF | 305 |
| 1 Essais de plusieurs colonnes et conditions chromatographiques..... | 306 |
| 1.1.1 Comparaison des temps de rétention | 307 |
| 1.1.2 Intensités des pics | 310 |
| 1.1.3 Comparaison de la forme des pics | 313 |
| 1.2 Bilan des développements chromatographiques en LC-QTOF | 314 |
| 1.3 Performances de la méthode en LC/QTOF | 314 |
| 2 Application d'analyse en mode « suspect » d'échantillons issus de matrices réelles | 318 |
| 2.1 Retraitement des données | 319 |
| 2.1.1 Analyse MS | 319 |
| 2.1.2 Analyse en mode MS/MS | 323 |

Ce chapitre se découpe en deux parties.

La première est consacrée à la participation à un essai inter-laboratoires organisé par le réseau NORMAN. Pour ce faire, deux solutions d'eau de rivière, dopées et non dopées par des polluants polaires, ont été distribuées aux participants. La solution étalon, contenant un mélange des molécules polaires, a également été fournie. Le but était d'appliquer les méthodes de SPE hors ligne développées au cours de cette thèse et de situer les performances de résultats obtenus par rapport aux autres participants. Contrairement aux développements en SPE hors ligne, l'analyse des composés a été menée sur un LC-QTOF 6550 ifunnel (*Agilent Technologies*) (chapitre 4 partie 1).

La seconde partie de ce chapitre a visé à améliorer les méthodes chromatographiques en phase liquide, dans l'objectif de les appliquer à des analyses non ciblées. Comme indiqué dans le chapitre précédent, le développement chromatographique préliminaire aux manipulations SPE hors ligne a été réalisé pour détecter les composés modèles, essentiellement en LC/QqQ.

La finalité des travaux étant d'appliquer les méthodes développées en analyse non-ciblée, une étude a été effectuée avec un système LC-QTOF iFunnel 6550 (*Agilent Technologies*).

Pour cela, dans un premier temps, la méthode chromatographique sur une colonne RP C18 a été améliorée (chapitre 4, partie 2, section 1). Les différents paramètres étudiés ont été :

- ✓ les colonnes chromatographiques
- ✓ les phases mobiles utilisées en chromatographies

Suite à cela, les performances de sensibilités en injection directe des composés modèles ont été évaluées.

Ces paramètres étant étudiés, une application en mode « suspect screening » (après extraction par SPE hors ligne) a été mise en œuvre, en utilisant les cartouches multicouche et Oasis HLB sur différentes matrices (chapitre 4, partie 2, section 2) :

- ✓ une eau milliQ qui a servi de référence
- ✓ une eau de source (Evian)
- ✓ une eau de rivière (Oise)
- ✓ une eau de STEP

Partie 1 : Participation à l'essai inter-laboratoire NORMAN

Le réseau NORMAN (NORMAN) est une association de laboratoires de recherche et d'instituts qui vise à favoriser, à une échelle internationale, le partage d'informations sur la pollution des milieux (particulièrement sur les substances émergentes). Ses activités comprennent également l'organisation d'essais inter-laboratoires sur des applications environnementales spécifiques, permettant de comparer les stratégies analytiques choisies et leurs résultats.

Un essai inter-laboratoires NORMAN « Detection and quantification of polar compounds by means of chromatography », consacré à la mesure de composés polaires, a été organisé par NORMAN en octobre 2016. Il consistait à l'envoi d'une solution étalon comprenant 22 composés. 1 L d'une eau de rivière dopée, et non dopée, avec cette solution étalon, ont également été fournis à tous les participants.

La participation à cet exercice permettait, dans le cadre de ces travaux, de tester les méthodes développées, particulièrement sur une liste de substances polaires indépendantes de celles utilisées pour les développements. De ce fait, les méthodes de SPE hors ligne développées auparavant, avec les deux cartouches Oasis HLB et multicouche, ont été utilisées.

La solution étalon et les deux extractions ont été analysées avec les colonnes chromatographiques C18 et HILIC en mode « full scan » sur le LC-QTOF 6550 ifunnel, *Agilent Technologies*. Les paramètres chromatographiques sont présentés Tableau 34. Les paramètres d'acquisition et de source le sont aussi (Tableau 35).

Pour cet exercice, la stratégie a été en premier lieu de créer une base de données incluant ces composés, en renseignant la masse molaire de chacun. Ensuite, ils ont été analysés en injection directe, en mode « full scan ». Les ions ont été détectés en extrayant les ions moléculaires $[M+/-H]^{+/-}$ et les adduits sodium $[M+Na]^+$ et ammonium $[M+NH_4]^+$. Les critères de masse (± 10 ppm) et de score (>75) ont été appliqués. Les temps de rétention ont ainsi pu être renseignés dans la base de données.

Les échantillons d'eau de rivière ont été extraits par SPE hors ligne selon les procédures développées au cours de cette thèse sur l'Oasis HLB (Tableau 17) et la cartouche multicouche (Tableau 21). Les extraits ont été analysés en appliquant les méthodes C18 et

HILIC (Tableau 34). Les composés ont été détectés selon le critère de masse, de score et de temps de rétention (chapitre 2 section 6.1.1).

Les résultats ont été comparés aux autres participants à cet essai et sont discutés dans cette partie.

1 Analyse de la solution étalon fournie par NORMAN

Une liste de composés a été fournie par NORMAN avec l'envoi de la solution étalon (Tableau 41). Cette liste contenait des composés de familles différentes et de polarités marquées avec des log D allant de -6,25 à 1,62 lorsque le pH de l'échantillon est à pH=3, puis allant de -5,46 à 2,16 lorsque le pH de l'échantillon est à 6,7.

Tableau 41 : Présentation des différents composés du test NORMAN et de leurs propriétés physico-chimiques

| Famille | Composés | Log D pH = 3 | Log D pH = 6,7 |
|--------------------------|--|-----------------|-------------------|
| Produits pharmaceutiques | 5-fluoro cytosine | -0,95 | -0,96 |
| Acide aminé | Arginine | -6,25 | -5,46 |
| Produits pharmaceutiques | Arprinocide | 1,41 | 2,16 |
| Produits pharmaceutiques | Cenzocaïne | 1,3 | 1,5 |
| Alcaloïdes | Bétaïne | -3,78 | -3,72 |
| Produits pharmaceutiques | Cétirizine | 0,39 | 0,83 |
| Produits phytosanitaires | Cyanoguanidine | -1,03 | -1,03 |
| Produits pharmaceutiques | Diéthanolamine | -4,08 | -3,97 |
| Explosif | Dinitramide de guanylurée | -4,55 | -2,09 |
| Produits pharmaceutiques | Hexaméthylènetétramine (urotropine) | -3,5 | 0,28 |
| Produits pharmaceutiques | Imidocarb | -3,21 | -2,8 |
| Produits pharmaceutiques | Iohexol | -1,95 | -1,95 |
| Acide aminé | L-asparagine | -4,32 | -4,29 |
| Résine | Mélatamine | -2,58 | -2,15 |
| Produits pharmaceutiques | Metformine | -3,66 | -3,66 |
| Produits pharmaceutiques | Oxycodone | -2,48 | -0,48 |
| Produits pharmaceutiques | Salbutamol | -2,36 | -1,88 |
| Produits pharmaceutiques | Acide salicylique | 1,62 | -1,4 |
| Edulcorant | Sucralose | -0,45 | -0,45 |
| Produits pharmaceutiques | Triméthyl-(2-prop-2-énoxyéthyl)azanium | -3,23 | -3,23 |
| Anti-convulsant | Vigabatrine | -2,8 | -2,1 |

Lors de la divulgation des résultats en juin 2017, il a été révélé que la solution ne comportait en fait que 20 substances. En effet, afin de tester les capacités des méthodes à discerner les faux positifs, deux composés - la triméthyl-(2-prop-2-énoxyéthyl) azanium et l'oxycodone - n'avaient pas été ajoutés par les organisateurs. Quelle que soit la technique d'analyse utilisée (C18 et HILIC), avec les méthodes développées lors de cette thèse, ces deux composés n'ont pas été détectés, ni reportés dans les résultats.

L'analyse des composés par la colonne C18 révèle que sur les 20 composés, deux n'ont pas été détectés (n.d) : dinitramide de guanylurée et vigabatrine. De plus, sur les composés détectés, 9/20 n'ont pas été retenus par la colonne et éluent donc dans le volume mort. Par conséquent, un autre type de support (HILIC) doit être employé pour retenir ces composés.

Lorsque la colonne HILIC a été employée, 5/20 composés n'a pas été détecté. En revanche, 14/20 composés sont retenus par cette colonne tandis que 1/20 (benzocaïne) ne l'a pas été avec cette (avec $k < 2$). La liste étant constituée de contaminants polaires, il est logique de constater une meilleure rétention sur la colonne HILIC. Comme il avait été remarqué dans les chapitres précédents : pour des analyses multirésidus, la colonne HILIC utilisée (Ascentis Express HILIC) présente certaines limites car elle ne permet pas de retenir tous les composés polaires. Les phases mobiles (solvant et adduits aqueux) sont également distinctes selon les méthodes C18 et HILIC, ce qui contribue à observer des différences au niveau de la détection.

Tableau 42 : Bilan des temps de rétention des composés de l'essai NORMAN analysés en C18 et en HILIC (n.d : non détectés)

| Composés | C18 | HILIC |
|-------------------------------------|----------|-------|
| | rT (min) | |
| Volume mort de la colonne(min) | 0,44 | 0,7 |
| 5-fluoro cytosine | 1 | 4,84 |
| Arginine | 0,8 | n.d |
| Arprinocid | 5,5 | 3,59 |
| Benzocaïne | 2,65 | 1,2 |
| Bétaïne | 1 | 8,3 |
| Cétrizine | 7,6 | 6,04 |
| Cotinine | 3,46 | 4,72 |
| Cyanoguanidine | 1 | 6 |
| Diéthanolamine | 0,8 | n.d |
| Dinitramide de guanylurée | n.d | n.d |
| Hexaméthylènetétramine (urotropine) | 1 | 9,7 |
| Imidocarb | 3,76 | 9,94 |
| Iohexol | 2,11 | 5,38 |
| L-asparagine | 0,83 | n.d |
| Mélamine | 1 | 6 |
| Metformine | 1 | 7,18 |
| Salbutamol | 2,65 | 6,75 |

| Composés | C18 | HILIC |
|-------------------|----------|-------|
| | rT (min) | |
| Acide salicylique | 2,2 | n.d |
| Sucralose | 3,8 | 2,03 |
| Vigabatrine | n.d | 4,88 |

La complémentarité des colonnes est vérifiée, car certains contaminants sont retenus par la colonne HILIC (ex : $rT_{\text{bétaine}} = 8,3$ min), quand ils ne le sont pas par la C18 (ex : $rT_{\text{bétaine}} = 1$ min), et vice versa. Au total, les résultats obtenus pour neuf composés démontrent la complémentarité d'utilisation de ces deux colonnes :

- ✓ 5-fluoro cytosine, bétaine, cyanoguanidine, urotropine, mélanine, metformine, vigabatrine ont été retenues avec le support HILIC par rapport à la C18.
- ✓ Benzocaïne et acide salicylique ont été mieux retenus avec le support C18 par rapport à l'HILIC.

Globalement, quelles que soient les méthodes de séparation et de détection dans ces travaux, quatre composés n'ont pas été détectés ou retenus : l'arginine, la diéthanolamine, la guanylurea et l'asparagine.

15 laboratoires (dont le nôtre) ont participé à cet essai de NORMAN (Figure 94). Seuls 20 % d'entre eux ont détectés les 20 composés. Pas loin de 40 % ont détectés entre 15 et 19 composés. Les méthodes employées dans ces travaux de thèse ont donc permis de se situer dans cette fourchette, c'est-à-dire parmi les 40 %. 20 % des laboratoires ont détecté entre 10 et 14 composés et 7 % des participants ont détecté moins de 10 contaminants. 13 % des laboratoires n'ont pas reporté leurs résultats.

Concernant le type de colonne utilisée, cinq partenaires ont utilisé des colonnes de type C18. Parmi ces colonnes, deux ont employé une colonne C18 avec des groupements polaires. Trois laboratoires ont utilisé des colonnes HILIC, Deux participants ont employé l'Acclaim Trinity P1. Deux participants ont utilisé la même stratégie que la nôtre. Il s'agit de réaliser deux analyses : une analyse en HILIC et en C18. Deux participants n'ont pas révélé le type de colonne employée.

Globalement, au vu des résultats reportés, pour l'analyse des composés polaires, il est donc préférable d'utiliser des colonnes mixtes ou HILIC. Les colonnes C18 n'ont d'affinités que

pour très peu de composés polaires. Dans l'idéal, deux analyses peuvent être également réalisées en utilisant une colonne C18 et une colonne HILIC.

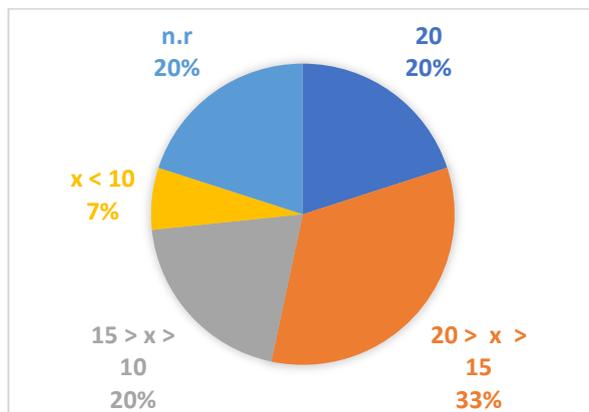


Figure 94 : Représentation du nombre de composés détectés pour la solution étalon par les 15 laboratoires. (n.r : les résultats n'ont pas été reportés pour cette partie).

2 Extraction des eaux de rivière par SPE hors ligne et analyse par LC/QTOF

Les échantillons de rivière, dopée et non dopée ont été extraits avec les cartouches Oasis HLB et multicouche. Chacun a été analysé en colonne C18 et HILIC.

2.1 Extraction de l'extrait de rivière non dopée

La Figure 95 montre que 27 % des participants ont retrouvé moins de cinq composés ; 20 % des partenaires entre 5 et 10 contaminants ; 6 % ont identifié entre 15 et 10 composés ; tandis que 20 % ont reporté entre 15 et 22¹⁶ molécules de la liste. Par ailleurs, 27 % des participants n'ont pas effectué l'analyse de rivière non dopée.

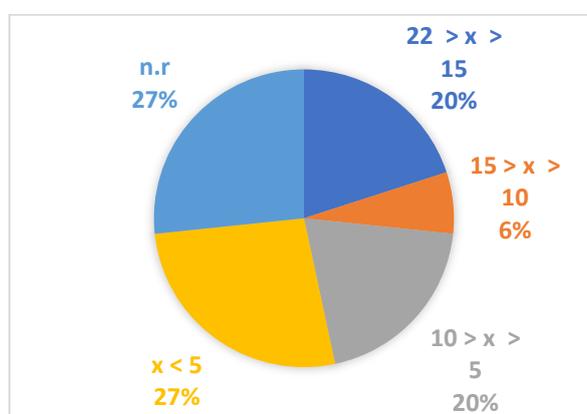


Figure 95 : Représentation du pourcentage de composés retrouvés par les laboratoires participants dans les rivières non dopées. (n.r : l'analyse n'a pas été effectuée)

En ce qui concerne les résultats reportés par notre laboratoire, lorsque l'extrait par SPE HLB a été analysé en C18, trois composés de la liste suivie ont été retrouvés (cétirizine, metformine et sucralose). Lorsque l'eau non dopée a été extraite avec la cartouche multicouche et analysée en C18, six composés ont été détectés (cétirizine, sucralose, metformin, aprinocid, cyanoguanidine et iohexol). Comme constaté lors des développements précédents, la cartouche multicouche permet de récupérer un plus grand nombre de composés polaires ; trois en plus dans ce cas.

Concernant les analyses des extraits en HILIC, cinq composés de la liste ont été extraits et détectés lorsque les cartouches multicouche (mélamine, metformine, sucralose, iohexol et betaine) et Oasis HLB (mélamine, metformine, sucralose, acinoprid et cetirizine) ont été

¹⁶ Si les deux faux positifs sont comptés, car certains laboratoires en ont trouvé.

employées sur l'eau non dopée. deux composés ont été détectés spécifiquement avec la cartouche multicouche et deux avec la cartouche HLB.

Pour les analyses en C18 et HILIC, nos résultats se situent parmi les 20 % des partenaires ayant détecté entre 5 et 10 composés dans l'eau non dopée.

2.2 Extraction de l'extrait de rivière dopée

La Figure 96 montre que 20 % des participants ont trouvé dans l'eau de rivière dopée entre 15 et 20 contaminants ; 26 % entre 10 et 15 ; 27 % moins de 10 % ; et 27 % n'ont pas reporté leurs résultats.

Lorsque les contaminants ont été analysés en C18, sept composés sur 16¹⁷ ont été extraits avec la cartouche Oasis HLB et 8/16 avec la cartouche multicouche. Tous les composés extraits sur l'Oasis HLB ont été retrouvés avec la cartouche multicouche.

Quand l'extraction de la rivière dopée a été analysée avec une colonne HILIC, 8/16 contaminants ont été détectés avec la cartouche Oasis HLB ; contre seulement 9/16 avec le support multicouche.

Une complémentarité des colonnes a été observée. La cyanoguanidine, la flucytosine et la mélamine ont été analysées uniquement en HILIC et la benzocaïne uniquement en C18. Au total, 11 composés ont été détectés, ce qui a permis de situer les méthodes développées lors de cette thèse parmi les 27 % de partenaires ayant trouvé entre 10 et 15 contaminants dans la moyenne des laboratoires.

¹⁷ Sur les 20 composés du mélange, quatre composés n'avaient pas été détectés instrumentalement avec les méthodes utilisées pour cette thèse.

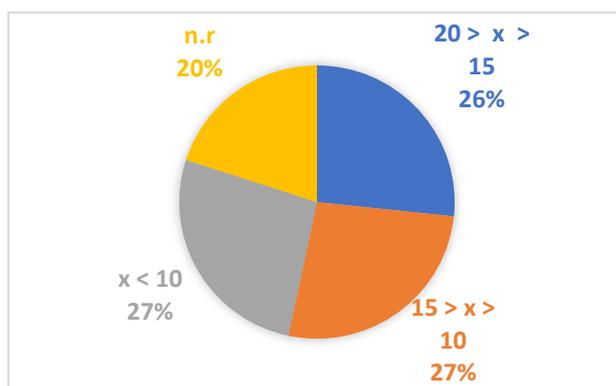


Figure 96 : Représentation du pourcentage de composés retrouvés par les laboratoires participants dans l'eau de rivière dopée (n.r. : résultats non reportés)

La Figure 97 indique que, mis à part la cétirizine, les aires des composés sont beaucoup plus élevées lorsque la cartouche multicouche a été employée par rapport à l'Oasis HLB. En effet, des gains en aires allant jusqu'à des facteurs de 70 ont été relevés. Ceci confirme que cette dernière a un pouvoir rétentif plus important pour les composés de types polaires.

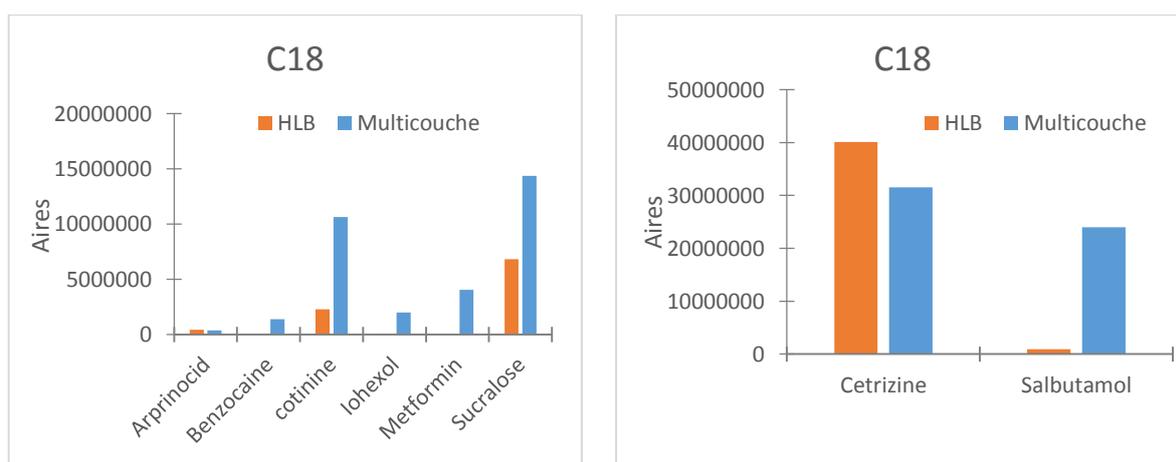


Figure 97 : Représentation des aires des composés obtenues pour l'essai NORMAN, avec différentes cartouches d'extraction analysées avec une colonne C18 en LC-QTOF.

Comme pour les résultats observés avec la colonne C18, les aires sont beaucoup plus importantes quand les extraits obtenus avec la cartouche multicouche ont été analysés dans les conditions HILIC, avec des gains d'un facteur de plus de 150 pour la metformine (Figure 98).

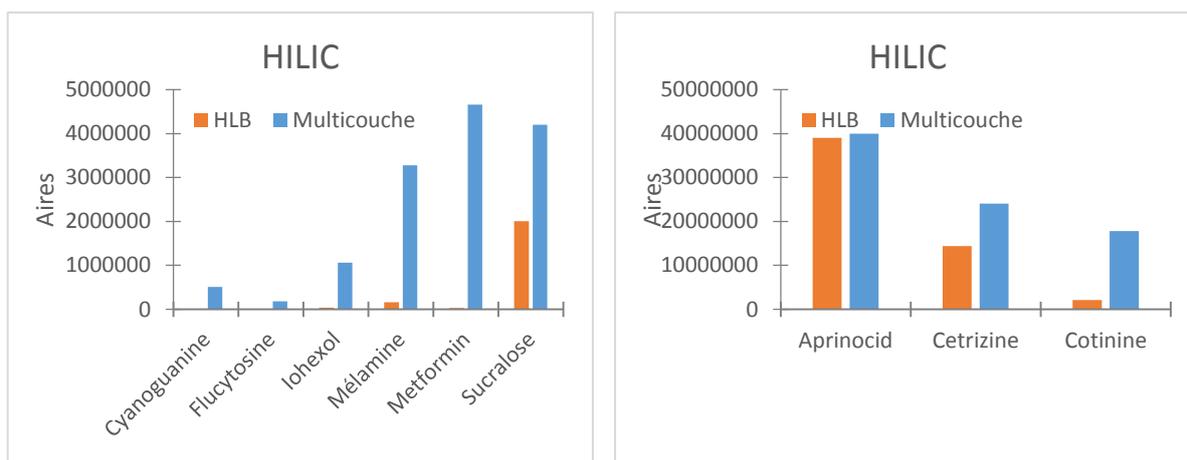


Figure 98 : Exemples de représentation des aires des composés obtenues pour l'essai NORMAN avec différentes cartouches d'extraction analysées avec une colonne HILIC

3 Bilan des essais

Ces expériences ont confirmé une complémentarité des colonnes C18 et HILIC. Cependant, 4/20 des composés n'ont pas été détectés ou retenus par les deux supports chromatographiques en injection directe de solution d'étalons. D'autres colonnes HILIC, ou la colonne mixte Trinity auraient pu être envisagées pour tenter de retenir tous les composés polaires.

Les deux méthodes SPE ont permis d'extraire les composés dopés dans l'eau de rivière. En revanche, entre ces 2 méthodes, des différences importantes ont été remarquées entre les aires en fonction des cartouches utilisées. Ainsi, la cartouche multicouche a permis de retenir les composés en plus grande quantité.

Les analyses en injection directe, les résultats sur les rivières (non dopée et dopée) et les méthodes analytiques développées lors de cette thèse, ont permis de se situer dans la moyenne des résultats retrouvés par le laboratoire.

Globalement, cet essai inter-laboratoires a montré les différentes méthodes qui puissent exister pour analyser un échantillon de rivière dopé par des contaminants polaires. Il a été montré que pour un exercice d'analyse ciblée, les méthodes d'analyse ne sont pas homogènes. Ceci est d'autant plus vrai et plus difficile en analyse ciblée. Chaque laboratoire dispose de ces propres pratiques. Le plus important est donc d'être conscient des limites des méthodes employées.

Partie 2 : Développements chromatographiques en LC-QTOF

La méthodologie par analyse non-ciblée (*non-target screening*) nécessite l'utilisation d'un appareil de masse haute résolution. Les conditions d'ionisation et les configurations de sources peuvent varier entre les appareils de différentes marques, notamment par rapport à un appareil LC-QqQ, utilisé pour les travaux précédents. Par conséquent, différentes phases mobiles ont été réévaluées sur cet instrument en mode « full scan ». La séparation chromatographique a été également revue.

Les conditions spectrométriques (source et acquisitions) ont été préalablement améliorées lors d'une étude en amont (Champeau 2017). Elles sont présentées Tableau 35.

Pour ces travaux de thèse, une base de données avec les composés modèles a d'abord été créée en renseignant leurs masses molaires. Ces derniers ont été analysés en mode « full scan », en faisant varier les différents paramètres chromatographiques expérimentaux.

L'identification des composés a été réalisée en extrayant les ions selon les critères de masse et de score définis dans le chapitre 2 section 6.1.1.

La meilleure méthode chromatographique étant choisie, les composés ont été analysés en mode « target MS/MS ». Dans ce cas, l'ion précurseur est sélectionné dans le premier quadropôle, puis il est fragmenté dans la cellule de collision et les ions produits sont détectés par le TOF selon les critères de masse, de temps de rétention et de score (chapitre 2 section 6.1.1.). Ainsi, la création de base de données avec des spectres MS/MS pour chaque composé de la liste a été établie.

1 Essais de plusieurs colonnes et conditions chromatographiques

Dans les chapitres antérieurs, il a été montré que la méthode chromatographique utilisant une colonne C18 permet de retenir 90 % des composés de la liste modèle analysés en LC-QqQ. Seulement 6 % des composés de la liste (aminotriazole, dicamba et acide monochloroacétique) nécessitaient une colonne HILIC pour être retenu avec $k > 2$. Pour augmenter la gamme de rétention des analytes ciblés, particulièrement celle des composés polaires, une colonne avec des groupements polaires a également été évaluée lors des développements en LC-QTOF.

Les composés de la liste (de la thèse) ont été dilués dans de l'eau milliQ à 100 µg/L. Dans le cadre de la thèse, la méthode chromatographique initiale employait une colonne C18 Kinetex, *Phénomex*. Le gradient chromatographique était composé d'un mélange H₂O + 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH. Les analyses ont été réalisées en mode ESI(+) et ESI (-) sur un Acquity UPLC H-Class (Waters) et couplé à un triple quadripôle (Acquity TQ Detector, Waters).

Une colonne C18 greffée avec des groupements polaires, Agilent Zorbax SB-Aq, est utilisée par *Agilent Technologies* pour la constitution de leur base de données spectrométriques en LC-QTOF (Berset et al. 2016). Les conditions chromatographiques utilisées par Agilent mettent en œuvre une phase mobile constituée d'un mélange H₂O + 1 mM d'acétate d'ammonium + 0,1 % d'acide acétique/ACN + 0,1 % d'acide acétique.

Les paramètres utilisés lors du développement par LC-QqQ (appelée « méthode interne ») ont été comparés à la méthode employée par Agilent. L'injection des composés modèles en mode « full scan » (positif et négatif) a été réalisée. Les contaminants ont été détectés selon les critères définis pour la précision de masse et pour le score (chapitre 2 section 6.1.1.).

Des conditions intermédiaires (en utilisant la colonne Agilent avec les phases mobiles de la méthode « interne » avec certaines adaptations) ont été également évaluées (Tableau 43). Le débit a été fixé à 0,4 mL/min et la température de colonne était de 40 °C. Ces conditions expérimentales sont détaillées Tableau 34.

Tableau 43 : Comparaison des différentes méthodes chromatographiques testées en LC-QTOF 6550 ifunnel

| Méthode | Colonne | Phase aqueuse | Solvant organique | Gradient |
|-------------------------|---|--|-----------------------------------|--|
| Interne | Kinetex C18 (2,6µm; 100 x 2,1mm) | H ₂ O + 10mM Acétate d'Ammonium (pH=6,82) | MeOH | T _{0min} : 95/5, T _{10min} : 0/100, T _{15min} : 0/100 |
| Agilent | Agilent ZORBAX SB-Aq (1,8µm ; 2,1 x 150mm) | H ₂ O + 1mM Acétate d'Ammonium + 0,1% acide acétique (pH=3,35) | ACN + 0,1% d'acide acétique | T _{0min} : 100/0, T _{2min} : 100/0, T _{14min} : 2/98, T _{16min} : 2/98, T _{19min} : 100/0, T _{19.50min} : 100/0 |
| Méthode mixte interne 1 | Agilent ZORBAX SB-Aq (1,8µm ; 2.1 x 150mm) | H ₂ O + 10mM Acétate d'Ammonium (pH=6,82) | MeOH | T _{0min} : 100/0, T _{2min} : 100/0, T _{14min} : 2/98, T _{16min} : 2/98, T _{19min} : 100/0, T _{19.50min} : 100/0 |
| Méthode mixte interne 2 | Agilent ZORBAX SB-Aq (1,8µm, 2.1 x 150mm) | H ₂ O + 1mM Acétate d'Ammonium (pH=6,27) | MeOH | T _{0min} : 100/0, T _{2min} : 100/0, T _{14min} : 2/98, T _{16min} : 2/98, T _{19min} : 100/0, T _{19.50min} : 100/0 |

1.1.1 Comparaison des temps de rétention

Le changement de méthode modifie le temps de rétention des composés modèles car deux types de colonnes aux dimensions différentes ont été employées pour la méthode interne et Agilent. De plus, la colonne Agilent (ZORBAX SB-Aq) a été utilisée avec les conditions de la méthode interne à deux concentrations en acétate d'ammonium : 10mM (méthode mixte interne 1) et 1mM (méthode mixte interne 2).

Pour normaliser les temps de rétention, l'utilisation du facteur de rétention k de chaque composé a été appliqué (équation 1).

$$k = \frac{tr - t_0}{t_0}$$

tr = temps de rétention mesuré au sommet du pic d'un composé retenu par la colonne employée

t_0 = temps de rétention d'un composé non retenu par la colonne employée

Équation 1 : Calcul du facteur de rétention

Par rapport à l'Acquity UPLC H-Class (Waters) couplé à un triple quadrupôle (Acquity TQ Detector, Waters, l'utilisation du LC-QTOF n'a pas permis de détecter certains composés quelles que soient les conditions utilisées en mode « full scan ». Il s'agit du dicamba, du 1-hydroxy ibuprofène, l'aminotriazole, l'acide monochloroacétique, l'ampicilline, la ciprofloxacine, le foramsulfuron et la tétracycline. Les deux premiers ont été analysés en LC-QqQ sur une source d'ionisation provenant de l'Acquity TQ Detector, Waters. Lors de

l'infusion de ces molécules dans cette source, il a été remarqué que des fragments apparaissaient avec une très faible énergie de collision. Ceci traduit une instabilité de ces contaminants et un début de fragmentation des molécules dans la source. La source « Agilent jet stream » a été choisie pour les analyses sur le LC-QTOF. Cette dernière emploie un « sheat gaz » qui permet de focaliser les ions autour d'un gaz chauffé [390 °C en ESI (+) et 350 °C en ESI (-) dans le cas de l'étude]. Ce gaz peut cependant accentuer la fragmentation des molécules sensibles.

L'aminotriazole et l'acide monochloroacétique sont de faible poids moléculaire. Il est donc difficile de les analyser sur le QTOF iFunnel en conditions génériques car cela nécessite la mise en place d'une méthode et de paramètres spécifiques, notamment au niveau du réglage de l'ifunnel. La géométrie de la source pourrait expliquer une des raisons pour lesquelles ces contaminants n'ont pas pu être analysés. Une étude a montré l'emploi du « sheat gaz » à 300 °C pour l'analyse de la tétracycline (Ferrer et al. 2010). Un autre motif peut être lié à l'ifunnel, qui permet de focaliser les ions, nécessitant une optimisation spécifique pour les contaminants ayant une faible masse moléculaire.

La Figure 99 dévoile que seule la metformine n'a pas été retenue (avec $k < 2$) par la méthode Agilent. L'asulam et la metformine ont une rétention avec un $k < 2$ lorsque la méthode interne a été employée. Pour les méthodes mixtes, seul l'asulam possède un $k < 2$; la metformine, elle, est très bien retenue dans ces conditions ($k = 5,51$ et $6,71$).

Globalement, 96 % des composés modèles sont beaucoup plus retenus lorsque les méthodes mixtes ont été employées par rapport à la méthode interne. Le fait d'utiliser une colonne avec des groupements polaires favorise une meilleure rétention des composés polaires et semi-polaires.

Concernant les phases mobiles, le pH acide (3,35), utilisé pour la détection de la metformine, n'a pas rendu possible sa rétention sur la colonne Agilent ZORBAX SB-Aq ; tandis qu'un pH neutre (6,68 ou 6,27) a permis sa rétention sur ce même support. L'effet inverse est observé avec l'asulam car il est mieux retenu en milieu acide que neutre. Pour le reste des composés, étant donné qu'ils sont élués avec un $k > 2$ dans tous les cas, l'influence du pH, même si elle modifie les facteurs de rétention, n'a pas un impact réel en termes opérationnel.

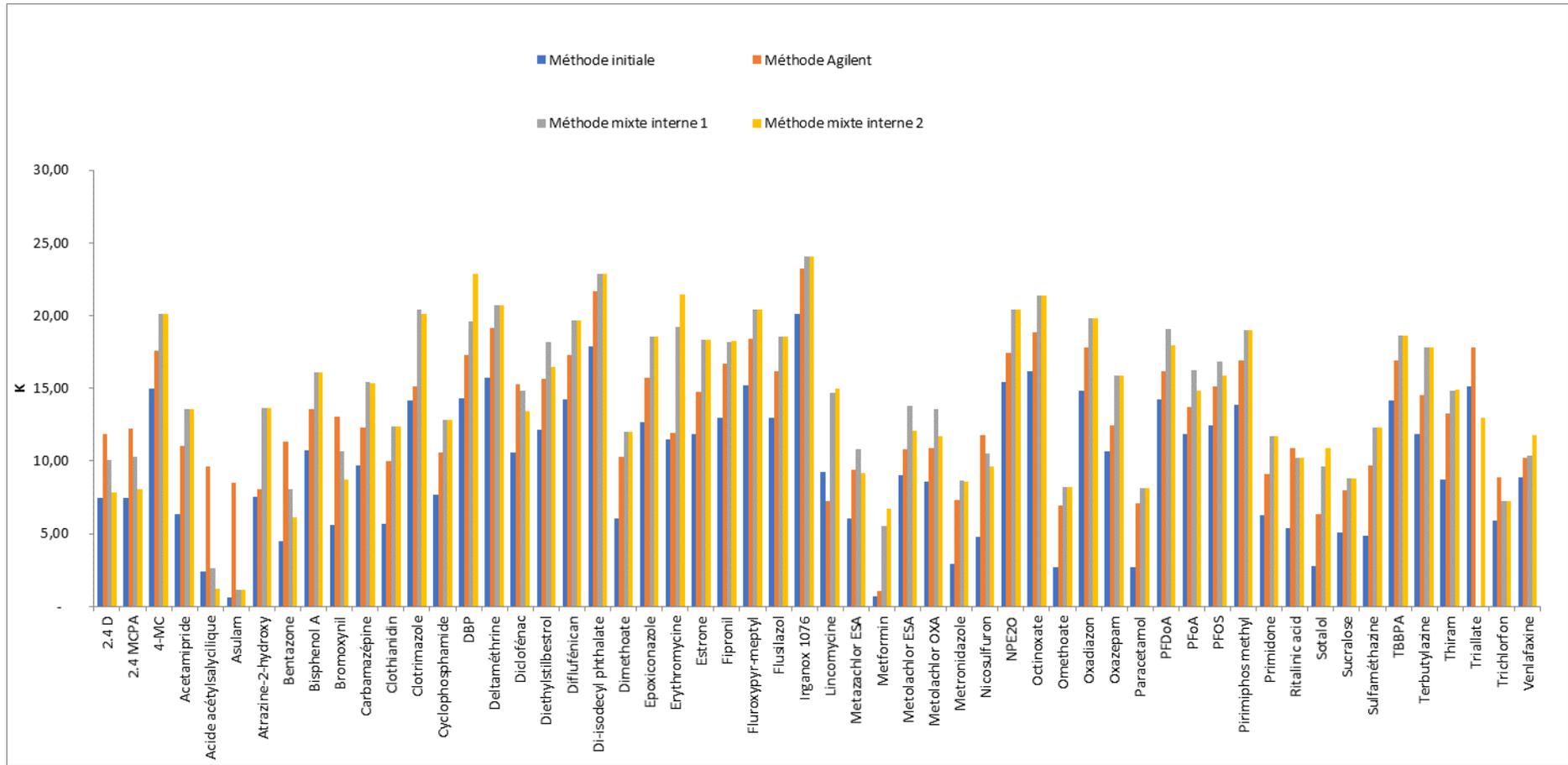


Figure 99 : Comparaison des facteurs de rétention (K) des composés étudiés selon les méthodes chromatographiques utilisées en LC-QTOF

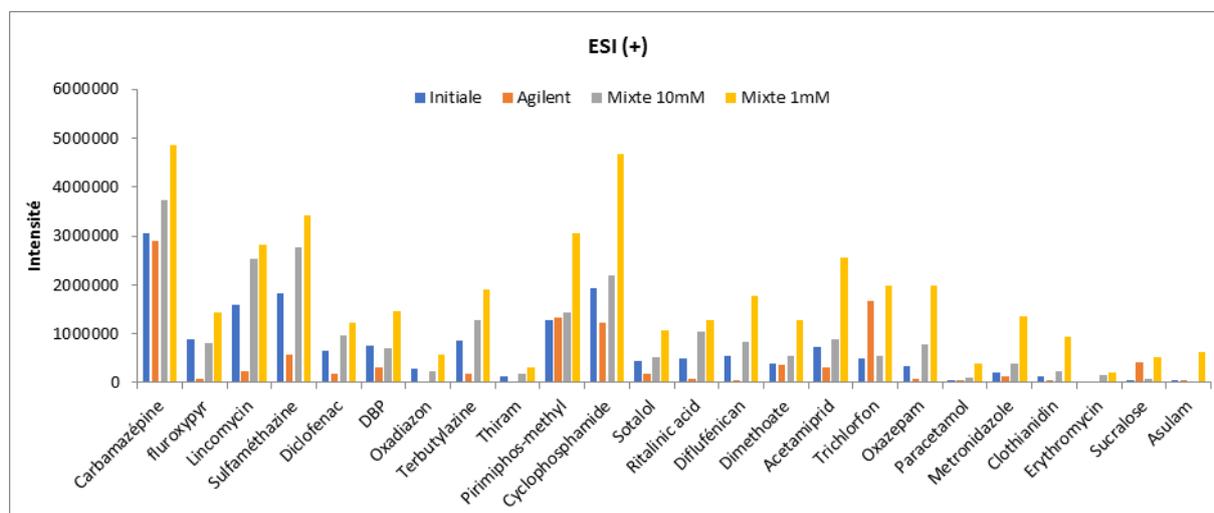
1.1.2 Intensités des pics

Les améliorations les plus importantes sur l'intensité des pics (et leur rétention) sont obtenues avec les méthodes dites "mixtes".

En utilisant les phases mobiles de la méthode interne H₂O + 1 ou 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH) avec la colonne polaire (Agilent ZORBAX SB-Aq), le facteur de rétention est plus fort et les pics obtenus produisent une intensité plus grande, pouvant atteindre, parfois, jusqu'à 10 fois l'intensité du pic obtenu avec la méthode interne (Figure 100). Cette augmentation d'intensité est encore exacerbée en utilisant une concentration en acétate d'ammonium à 1mM (le temps de rétention est identique dans la plupart des cas avec la phase mobile à 10mM d'Acétate d'Ammonium). Ainsi, la méthode « mixte interne 2 », employant l'Agilent ZORBAX SB-Aq avec une phase mobile composée d'un mélange H₂O + 1mM Acétate d'Ammonium/ MeOH, paraît un meilleur choix.

Sur les 48 composés détectés en mode positif, il est observé que 38 subissent une augmentation de leur intensité lorsque la méthode mixte à 1mM a été appliquée (par rapport à la méthode interne). Un gain de plus de 50% a été remarqué pour 22 d'entre eux. En mode négatif, sur les 12 composés produisant une réponse dans ce mode, le même changement de méthode entraîne une augmentation de l'intensité pour six composés, avec un gain de plus de 20 % pour trois d'entre eux. Une faible concentration en acétate d'ammonium (1 mM) permet d'augmenter le signal.

Les graphes ci-dessous décrivent la variation de l'intensité des pics de quelques composés en mode positif et négatif en fonction des méthodes utilisées.



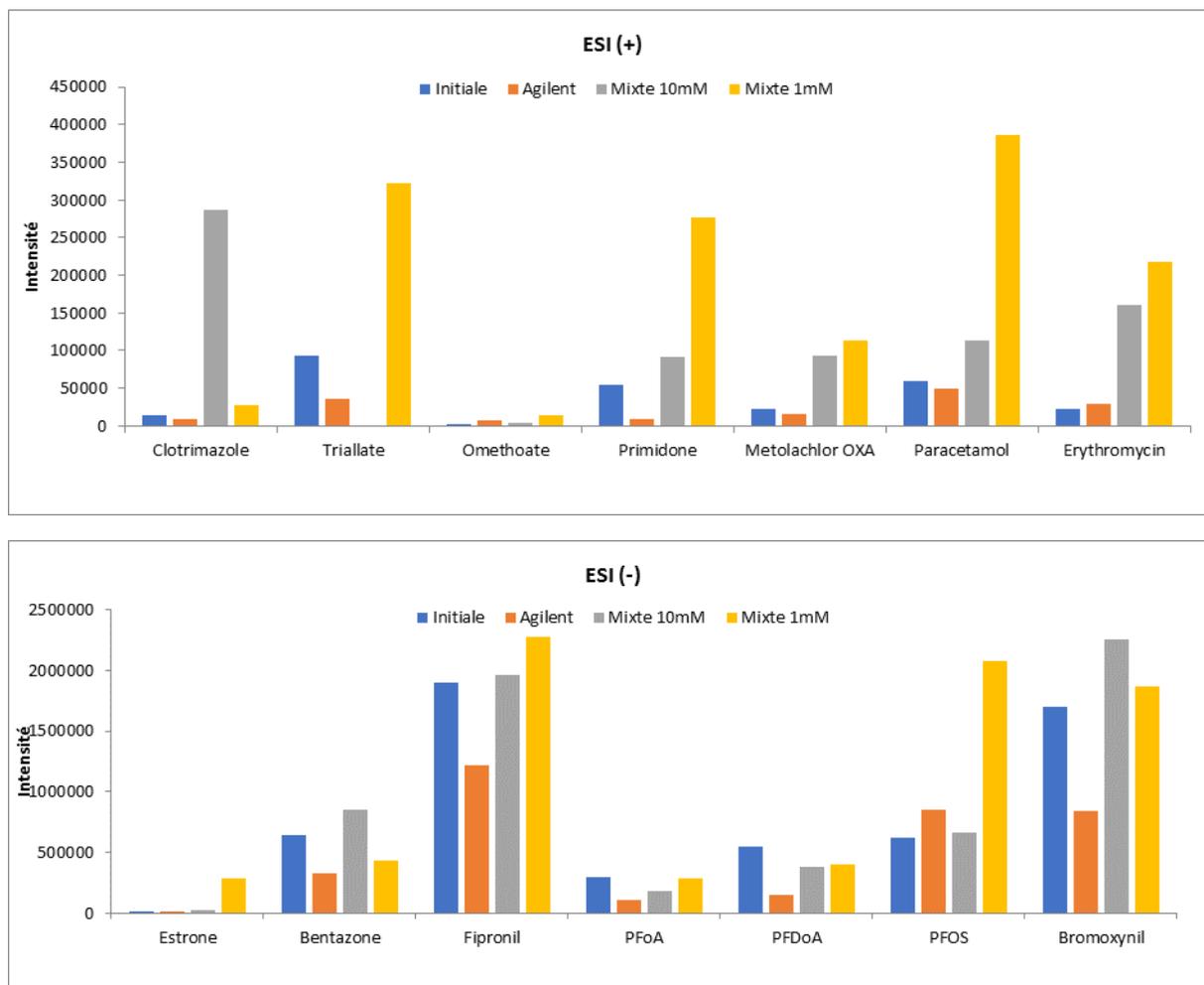


Figure 100: Comparaison de quelques intensités des pics de différents composés en mode ESI positif et ESI négatif, pour les méthodes interne, Agilent, mixtes interne 1 et mixte interne 2.

En prenant comme exemple le chromatogramme de la Figure 101, représentant les pics obtenus pour la carbamazépine, de nombreuses différences peuvent être soulignées (en termes de temps de rétention et d'intensité) avec une augmentation significative de sensibilité pour la carbamazépine, avec les méthodes mixtes.

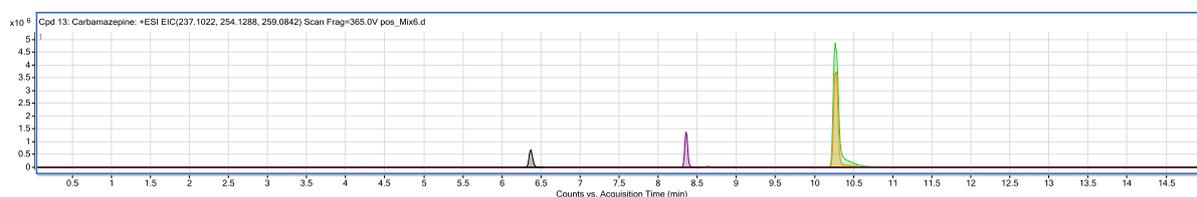


Figure 101: Comparaison des pics chromatographiques de la carbamazépine dans les différentes méthodes utilisées (noir : méthode interne, violet : méthode Agilent, orange : méthode mixte à 10mM d'Acétate d'Ammonium, vert : méthode mixte avec 1mM d'Acétate d'Ammonium)

Toutefois, certains composés, comme l'asulame, ont un caractère plus atypique, en particulier lors de l'analyse par les méthodes « mixtes ». La méthode interne et la méthode

« interne mixte 1 » produisent un pic avec la même intensité, mais le pic de la méthode « interne mixte 1 » est plus large, en témoigne la Figure 102. En revanche, en passant à 1mM, le pic obtenu, au même temps de rétention que 10 mM, est beaucoup plus intense.

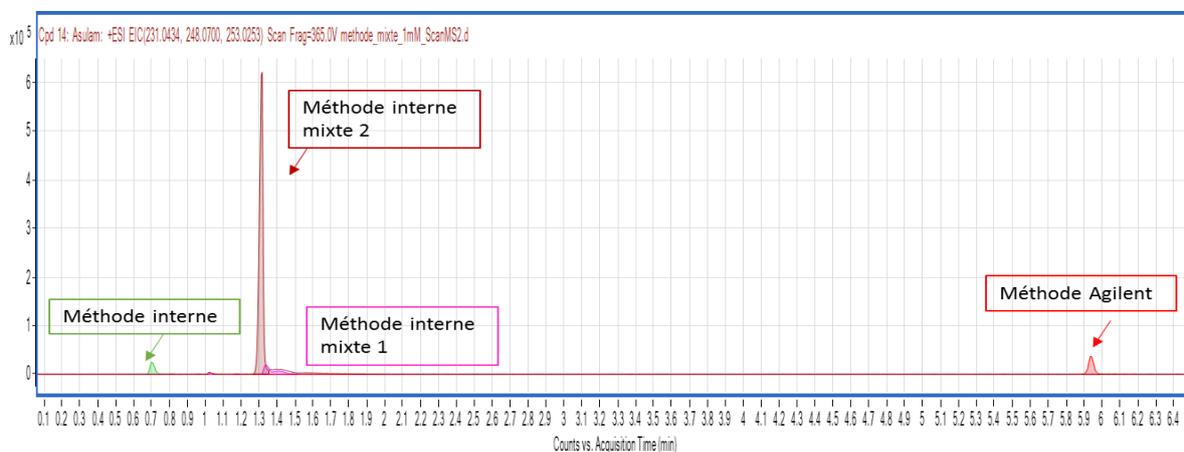


Figure 102: Comparaison des pics chromatographiques de l'asulame dans les différentes méthodes utilisées (vert : méthode interne, rouge : méthode Agilent, rose : méthode interne mixte 1 à 10mM d'Acétate d'Ammonium, marron : méthode interne mixte 2 avec 1mM d'Acétate d'Ammonium)

L'acétate d'ammonium permet de fixer le pH de la solution aqueuse et de favoriser l'ionisation de certains composés. Il est noté néanmoins qu'une concentration trop importante d'acétate d'ammonium peut entraîner une réduction relative de l'intensité de nombreux composés.

L'apport en ions NH_4^+ par l'acétate d'ammonium rend également possible la formation d'adduits avec les différents composés présents dans le mélange. Deux cas de figure se produisent dans ce cas : soit l'adduit ammonium reste tel quel et la molécule est détectée sous la forme $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$; soit l'adduit NH_4^+ se décompose dans la source en NH_3 et se libère. La molécule est alors détectée sous forme $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Or, quelques composés peuvent également former des adduits avec les ions Na^+ , qui ont l'inconvénient d'être très stables et de se fragmenter difficilement en mode MS/MS (ce qui peut nuire à leur identification lorsque ce mode doit être sollicité). Dans le cas de cette étude, le mode MS/MS ou « target MS/MS » n'est pas employé car seul le mode « full scan » est utilisé.

Une compétition se produit entre la formation de ces deux adduits. La variation de concentration en acétate d'ammonium modifie donc également le nombre d'adduits Na^+

pouvant être formés. Ainsi, une concentration de 10 mM en acétate d'ammonium réduit l'intensité du pic de l'adduit Na^+ pour les composés pouvant se former, par rapport à une concentration à 1mM, tel que le montrent les graphes ci-dessous.

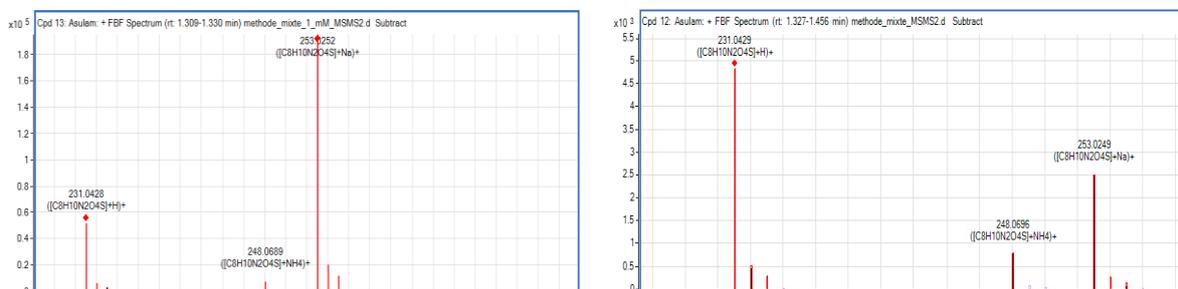


Figure 103 : Spectre de masse représentant le pic de l'adduit sodium par rapport au pic protoné pour une concentration à 1mM en Acétate d'Ammonium (à gauche) et 10mM en Acétate d'Ammonium (à droite) pour l'asulam (LC-QTOF fullscan ESI+)

L'intensité des adduits Na^+ est réduite de manière relative par rapport à l'ion moléculaire avec la méthode mixte utilisant 10 mM d'acétate d'ammonium. Cependant, l'augmentation de l'intensité à 1 mM d'acétate d'ammonium indique que malgré une production relativement plus importante en adduit Na^+ , la quantité absolue du pic moléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ est tout de même en augmentation par rapport au pic obtenu avec 10 mM (Figure 103).

Pour conclure, dans le cadre d'une analyse en mode « full scan », avec la méthode interne mixte 2, même si la quantité d'adduit sodium est plus grande - par rapport à des méthodes comportant plus d'acétate d'ammonium - la quantité (intensité) obtenue pour le pic moléculaire est quand même plus importante.

1.1.3 Comparaison de la forme des pics

Certaines différences ont été constatées sur la forme des pics obtenus entre la colonne Kinetex C18 et Zorbax AQ: quatre composés (érythromycine, lincomycine, venlafaxine, sotalol) présentent une forme de pic asymétrique lorsqu'ils ont été analysés dans les conditions chromatographiques avec la méthode mixte avec 1mM d'acétate d'ammonium alors qu'avec la méthode initiale, les pics étaient de formes gaussiennes (Figure 104 et Figure 105).

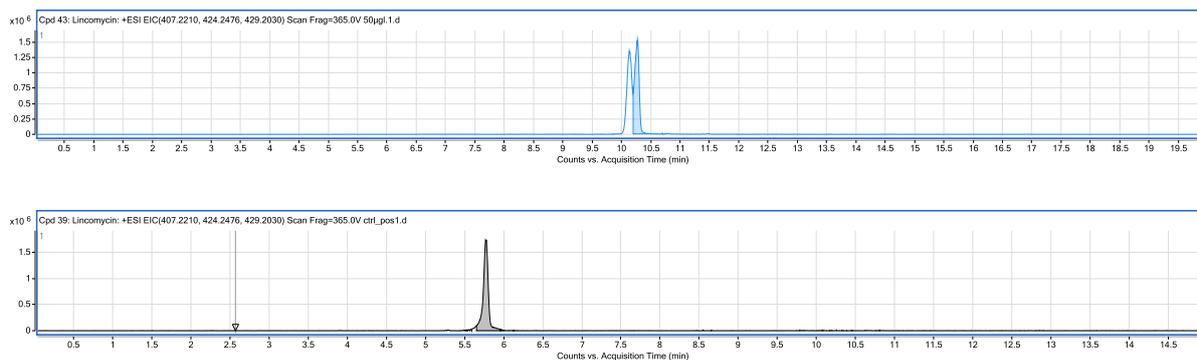


Figure 104 : chromatogrammes du lincomycine utilisant la méthode employant 1 mM d'acétate d'ammonium/ MeOH sur la colonne Agilent (haut) et la méthode employé 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH sur la colonne Kinetex (bas) en mode « full scan »

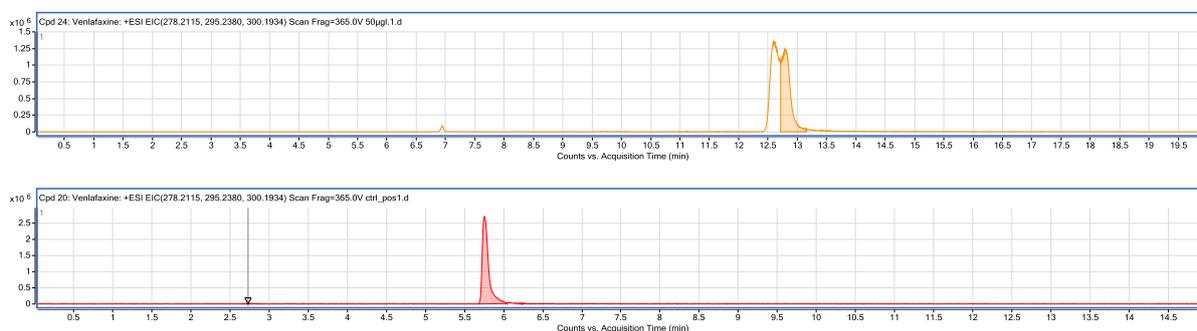


Figure 105 : Chromatogrammes de la venlafaxine utilisant la méthode employant 1 mM d'acétate d'ammonium/ MeOH sur la colonne Agilent (haut) et la méthode employé 10 mM d'acétate d'ammonium/MeOH sur la colonne Kinetex (bas) en mode « full scan »

1.2 Bilan des développements chromatographiques en LC-QTOF

L'utilisation d'une colonne C18 avec des groupements polaires (Agilent ZORBAX SB-Aq) a favorisé l'augmentation significative de la rétention des composés modèles, notamment les plus polaires. De plus, l'emploi d'une phase mobile constituée H₂O + 1 mM d'acétate d'ammonium / MeOH a apporté un gain d'intensité par rapport aux conditions utilisées initialement¹⁸. Ce qui justifie que cette méthode ait été retenue pour les conditions d'analyse en LC/QTOF.

1.3 Performances de la méthode en LC/QTOF

A la suite des développements sur les colonnes chromatographiques, les phases mobiles, les paramètres MS (Champeau 2017) (Tableau 35), les performances instrumentales ont été déterminés selon les éléments du Tableau 44. Les analyses ont été réalisées en « full scan ».

¹⁸ Kinetex C18 avec une phase mobile constituée d'un mélange H₂O + 10mM Acétate d'Ammonium

Les ions ont été extraits d'après les critères de masse, de temps de rétention et de score (chapitre 2 section 6.1.1).

Tableau 44 : Paramètres chromatographiques et MS du LC-QTOF

| UHPLC 1290 (Agilent Technologies) | | | | QTOF 6550 ifunnel (Agilent Technologies) | | |
|---|----------------|----------|---|--|-----------------------|---------------------------------|
| Colonne | Débit (mL/min) | T°C four | Phase mobile | Mode | ESI (+) | ESI (-) |
| Agilent ZORBAX SB-Aq (1,8µm, 2.1 x 150mm) | 0,4 | 40 | H2O + 1mM Acétate d'Ammonium (pH=6,27) MeOH | Température du « sheat gas » (°C) | 390 | 350 |
| | | | | Débit du « sheat gas » (L/min) | 12 | 12 |
| | | | | Pression de nébulisation (psig) | 30 | 30 |
| | | | | Tension au capillaire (V) | 3500 | 3500 |
| | | | | Tension au « nozzle » (V) | 0 | 0 |
| | | | | Température du gaz séchant (°C) | 200 | 200 |
| | | | | Flow du gaz séchant (L/min) | 17 | 15 |
| | | | | Fragmentor (V) | 365 | 365 |
| | | | | Gamme de masse (m/z) | 30-1050 | 30-1050 |
| | | | | Références de calibration | 121,0508 et 922.00979 | 112,9855 ; 980,0163 ; 1033,9881 |
| | | | | Nombre de scan ((spectre/sec) | 4 | 4 |
| | | | | Funnel Exit DC : | 50 | Funnel Exit DC : 50 |
| | | | | ifunnel (V) | Funnel RF HP: 200 | Funnel RF HP: 200 |
| | | | | | Funnel RF LP: 100 | Funnel RF LP: 100 |

Les performances ont été déterminées pour chaque composé en injectant une gamme de concentration de 5 à 50000 ng/L diluée dans l'eau milliQ. Les LQ instrumentales ont été calculées grâce à la méthode présentée dans le chapitre 2 section 5. Elles ont été exprimées en nombre de pg injectées sur la colonne chromatographique. Pour rappel, 5 µL de solution ont été injectés en LC-QTOF.

Au total, 12 % (8/64) des composés modèles n'ont pas été détectés en LC-QTOF à une concentration de 50 µg/L dans l'eau milliQ (1-hydroxy-ibuprofene, acide monochloroacétique, aminotriazole, ampicilline, ciprofloxacine, dicamba, foramsulfuron et tétracycline) (n.d. Figure 106).

Environ 9 % des contaminants ont une LQ < 0,1 pg injecté sur la colonne ; 25 % une LQ située entre 0,1 et 1pg injectés ; 22 % ont une LQ située entre 1 et 10 pg injectés ; 11 % une LQ entre 10 et 50 pg ; 12 % avec une LQ > 50 pg et 8 % sont des composés ubiquistes qui sont retrouvés dans les blancs et les échantillons (bisphénol A, diisodécyl phtalate, DBP, NPE2O, irganox 1076) pour lesquels la LQ n’a pu être déterminée (ils sont représentés dans la figure suivante par le sigle « c ») (Figure 106).

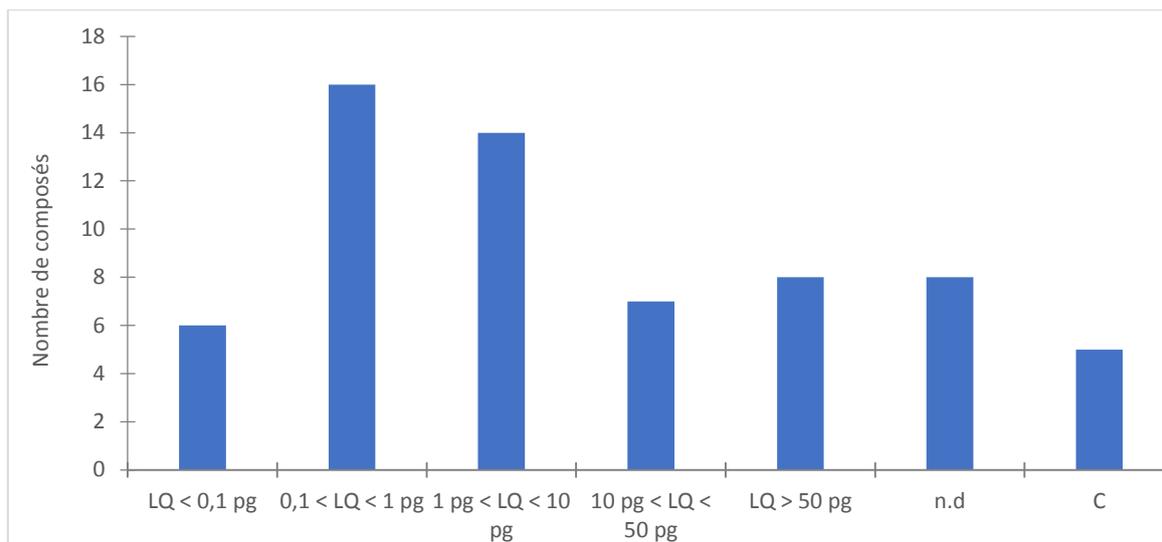


Figure 106 : Représentation du nombre de composés en fonction des LQ en quantité injectée (pg, pour 5 µL injectés en LC-QTOF en mode ESI (+) et ESI (-) en acquisition « full scan »

En conclusion, la méthode employant la colonne Agilent ZORBAX SB-Aq avec une phase mobile composée d’un mélange H₂O + 1mM Acétate d’Ammonium (pH=6,27)/ MeOH offre de bonnes performances instrumentales, car environ la moitié des composés détectés a une LQ instrumentale inférieure à 20 pg injectés. En considérant le volume d’injection, cela équivaut à une concentration de 4 µg/L en injection directe. Le Tableau 45 présente les performances instrumentales obtenues sur le LC-QTOF iffunel 6550.

Tableau 45 : Performances instrumentales en LC-QTOF en acquisition « full scan ». Les composés non détectés sont signalés par le sigle nd. Le sigle C signifie qu'il y a eu une contamination des blancs d'eau milliQ

| Nom | LQ (pg injectés) | Nom | LQ (pg injectés) | Nom | LQ (pg injectés) | Nom | LQ (pg injectés) |
|--------------------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------|------------------|-------------------|------------------|
| 1-Hydroxy-ibuprofene | n.d | Clothianidin | 0,1 | Flusilazole | 0,05 | PFDoA | 50,5 |
| 2.4 D | 47 | Clotrimazole | 61 | Foramsulfuron | n.d | PFoA | 4,7 |
| 2.4 MCPA | 138,1 | Cyclophosphamide | 0,003 | Irganox 1076 | C | PFOS | 0,4 |
| 4-MC | 5 | DBP | C | Lincomycine | 1,9 | Pirimiphos-methyl | 0,8 |
| Acétamipride | 0,7 | Deltaméthrine | 148 | Métazachlor ESA | C | Primidone | 4,8 |
| Acide acétylsalicylique | 85 | Dicamba | n.d | Metformine | 1,5 | Acide ritalinique | 0,8 |
| Acide monochloroacétique | n.d | Diclofénac | 3,2 | Métolachlor ESA | 1,5 | Sotalol | 0,5 |
| Aminotriazole | n.d | Diéthylstilbestrol | 189 | Métolachlor OXA | 7,1 | Sucralose | 2,0 |
| Ampicilline | n.d | Diflufénican | 1 | Métrocinazole | 0,02 | Sulfaméthazine | 0,2 |
| Asulam | 0,01 | Di-isodécyl phthalate | C | Nicosulfuron | 2,5 | TBBPA | 35,8 |
| Atrazine-2-hydroxy | 0,02 | Diméthoate | 0,1 | NPE2O | 8,5 | Terbuthylazine | 0,3 |
| Bentazone | 1,2 | Epoconazole | 0,4 | Octinoxate | 0,9 | Tétracycline | n.d |
| Bisphénol A | C | Erythromycine | 14,3 | Ométhoate | 107,1 | Thiram | 43,3 |
| Bromoxynil | 0,4 | Estrone | 52,1 | Oxadiazon | 4,5 | Triallate | 23,8 |
| Carbamazépine | 0,1 | Fipronil | 0,3 | Oxazépam | 0,8 | Trichlorfon | 99,6 |
| Ciprofloxacine | n.d | Fluroxypyr-Meptyl | 21,0 | Paracétamol | 2,5 | Venlafaxine | 5,0 |

2 Application d'analyse en mode « suspect » d'échantillons issus de matrices réelles

Les méthodes développées en SPE hors ligne et en LC/QTOF ont été appliquées sur une analyse non ciblée (en mode suspect) pour quelques matrices représentatives (Chapitre 2 paragraphe 2) :

- ✓ eau milliQ (considérée comme blanc)
- ✓ eau d'Evian
- ✓ eau de l'Oise
- ✓ eau de STEP

Ces matrices ont été extraites par SPE sur cartouches Oasis HLB (chapitre 2 section 3.1.3.1) et multicouche (chapitre 2 section 3.1.3.2) et analysées en triplicat en LC-QTOF.

Pour réaliser ces analyses, la stratégie suivante a été déployée :

- une première analyse est effectuée en mode « fullscan » (MS). Ainsi, à l'aide de différents logiciels fournis par Agilent, une liste de composés suspects est établie grâce aux masses et temps de rétention, par comparaisons avec les données expérimentales obtenues et celles contenues dans les bases de données.
- une seconde analyse en mode « MRM » ou « target MS/MS » est ensuite réalisée sur ces composés suspects pour tenter de les confirmer par une comparaison des spectres MS/MS, retrouvés dans des bases de données, et ceux obtenus lors de l'analyse MS/MS. (Pour définitivement confirmer l'identité des substances supposées, des étalons de ces substances doivent être injectés. Cela n'a pas été effectué dans cette étude).

Les paragraphes suivants détaillent les différentes stratégies et les résultats obtenus. Les paramètres chromatographiques et MS utilisés en mode « full scan » sont ceux utilisés précédemment pour l'analyse des composés modèles (Tableau 44).

2.1 Retraitement des données

2.1.1 Analyse MS

Chaque échantillon a été analysé en triplicat en mode MS. Les données brutes obtenues pour chaque injection d'extrait ont ensuite été traitées à l'aide des logiciels fournis par Agilent.

Elles ont d'abord été traitées par le logiciel « Mass Profinder » (Figure 107). Ce logiciel comprend notamment un algorithme qui permet d'extraire une liste de pics par une analyse récursive, correspondant aux composés détectés lors de l'analyse « full scan » (partie qui permet d'agrèger les différents ions moléculaires, isotopiques et adduits pour chaque composé) selon plusieurs critères (Tableau 46).

Tableau 46 : Critères utilisés par la recherche par « mass profinder », après une analyse MS

| Critères | Hauteurs du pic | Adduits | Espacement entre les isotope ¹⁹ | Fenêtre de rt (min) | Fenêtre de masse (ppm) | Score MFE | Limite maximal de composés |
|----------|-----------------|---|--|---------------------|------------------------|-----------|----------------------------|
| | 50 000 | ESI (+) : Na ⁺ et H ⁺ ESI(-) : H ⁻ | 0,0025 | +/-0,15 | +/- 12 | 70 | 2000 |

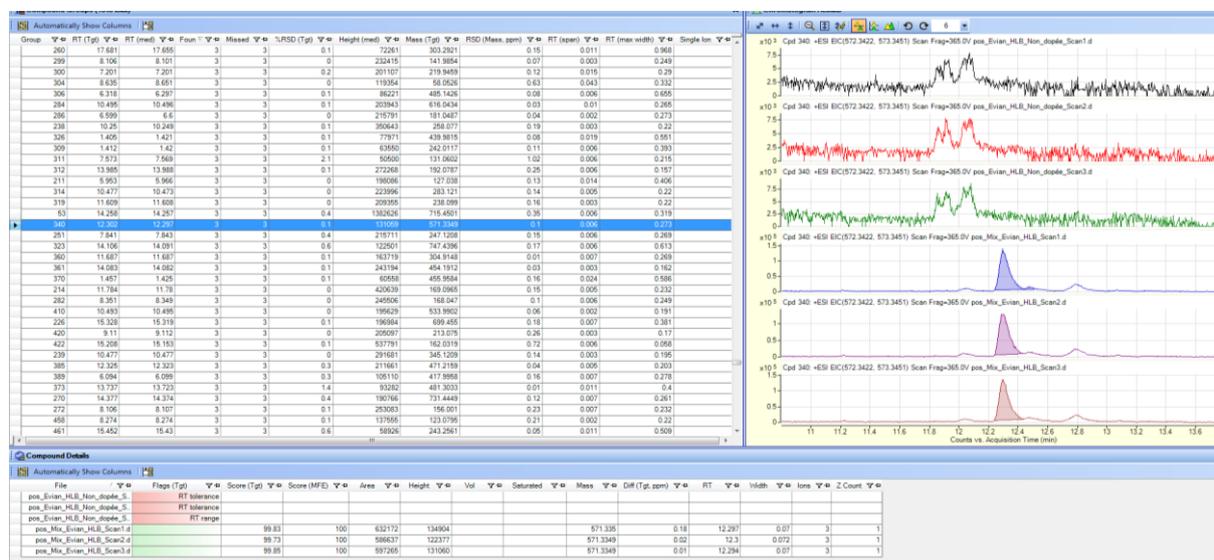


Figure 107 : Comparaison des blancs d'eau milliQ et des échantillons par « mass profinder »

Les données traitées ont ensuite été exploitées avec le logiciel « mass profiler » pour l'identification des pics détectés en mode MS et par rapport au blanc. Ce logiciel prend en

¹⁹ Espacement m/z des pics mesurés par rapport à la valeur théorique.

compte les trois répétabilités d'injection pour chaque échantillon et les trois blancs correspondants.

Lors du traitement des données, les échantillons issus des matrices Evian, Oise et STEP ont donc été comparés et soustraits aux échantillons issus de la matrice MilliQ. Cette eau étant considérée comme la plus pure des quatre matrices, elle a été utilisée comme référence et pour représenter la contamination provenant du processus d'extraction et du système analytique (solvants utilisés notamment). Lors de l'analyse des données des différentes matrices, une soustraction a été effectuée en retranchant les entités détectées dans l'eau MilliQ à celles détectées pour chaque autre matrice testée. Le but : obtenir des listes de composés attribuables spécifiquement à chacune des matrices considérées.

Pour effectuer cette soustraction, les contaminants détectés dans le blanc n'ont pas été pris en compte dans le traitement des échantillons, si le ratio entre les aires obtenues pour un échantillon et celle du blanc n'était pas supérieur à 8 (ratio choisi arbitrairement). Des critères de masse et de temps de rétention ont également été appliqués (Tableau 47). Un exemple est présenté Figure 108. Chaque point représente une masse et donc un composé suspect.

Tableau 47 : Critères appliqués lors de la comparaison des échantillons par rapport au blanc

| | Gamme de rt (min) | Fenêtre de masse (ppm) |
|----------|----------------------|---------------------------|
| Critères | +/- 0,15 | +/- 12 |

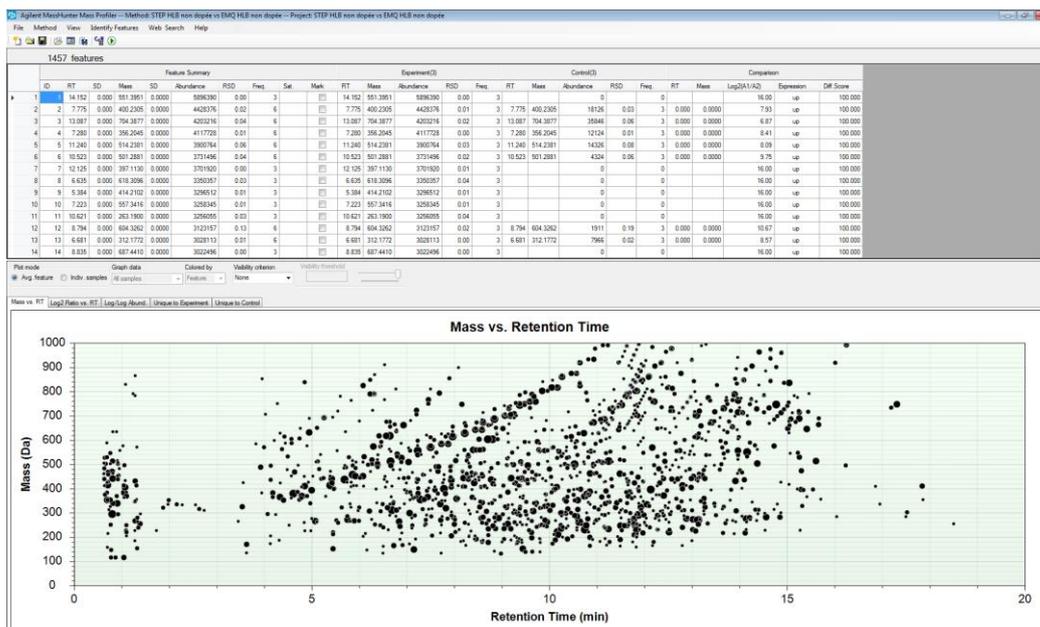


Figure 108 : représentation des composés après la soustraction du blanc dans les échantillons de STEP en ESI (+) (extrait du logiciel mass profiler)

Une fois que la soustraction du blanc a été réalisée dans les échantillons, il faut identifier les composés suspects. Pour cela, une recherche dans les bases de données est réalisée.

Pour identifier les composés suspects, la liste obtenue à la suite de la soustraction du blanc obtenue a été confrontée à deux bases de données : l’une fournie par Agilent (PCDL Water_AMRT, comprenant 1451 substances, dont environ les 3/4 avec des spectres MS/MS) et décrites dans des conditions indiquées dans une note d’application (Berset et al. 2016), et l’autre générée au laboratoire avec les conditions d’analyses sélectionnées dans la partie précédente (Tableau 44), créée au niveau du laboratoire lors d’une autre étude (Champeau 2017) . Dans cette bibliothèque, des temps de rétentions, des masses moléculaires et des spectres de masse MS/MS ont été renseignés.

Ainsi, une liste des composés suspects avec le nom des molécules proposées est établie selon certains critères de masse, de score et de temps de rétention (Tableau 48).

Tableau 48 : Critères appliqués lors de l’identification des composés suspects

| Gamme de masse (ppm) | rT (min) | Adduit | Score |
|----------------------|----------|--|-------|
| 5 | 0,1 min | ESI (+) : Na ⁺ et H ⁺ ESI(-) : H ⁻ | < 70 |

La Figure 109 montre un exemple de propositions de composés à la suite des recherches par rapport aux deux bases de données.

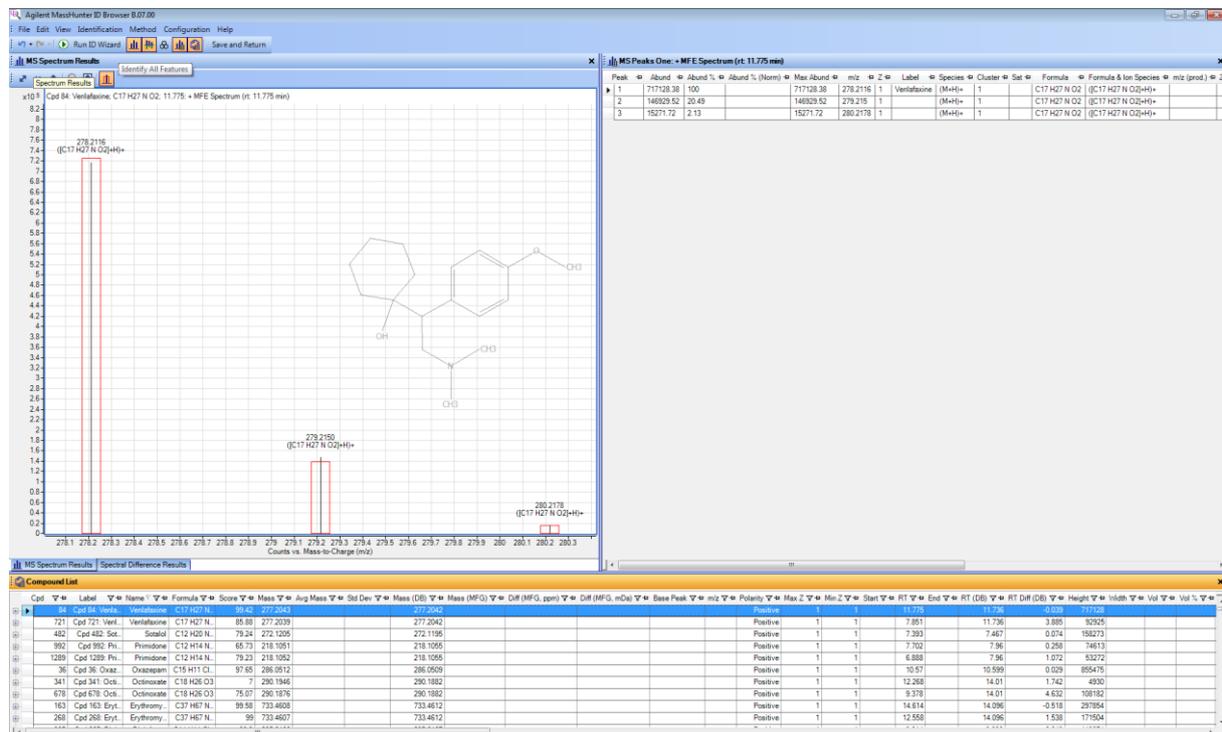


Figure 109 : Identifications des composés détectés de l'analyse en mode MS par « Mass Profiler »

La comparaison du nombre de composés détectés sur les deux types de cartouches pour les différentes matrices (Tableau 49) révèle que chaque cartouche retient un nombre différent de composés selon la matrice. Aussi, ce nombre est croissant selon la complexité de la matrice. Ce qui fait que des composés ont été (logiquement) très peu détectés sur les matrices de type MilliQ (analysées directement avec les algorithmes et logiciel Masshunter) et Evian.

Tableau 49 : Comparaison du nombre de composés identifiés avec les 2 bases de données utilisées, sur les deux types de cartouche, en modes positif et négatif

| | | ESI (+) Détectés | ESI (-) Détectés |
|-------------|--------|---------------------|---------------------|
| Multicouche | MilliQ | 24 | 6 |
| | Evian | 51 | 5 |
| | Oise | 68 | 13 |
| | STEP | 150 | 37 |
| Oasis HLB | MilliQ | 24 | 7 |
| | Evian | 36 | 10 |
| | Oise | 70 | 16 |
| | STEP | 158 | 43 |

Ce type de résultats est néanmoins à prendre avec prudence, car l'identification se fait en comparant la masse, le temps de rétention et le score. Il y a un risque important de générer des faux positifs avec ces seules informations. Il convient d'obtenir une information supplémentaire sur les composés détectés sous la forme de fragmentation en mode MS/MS.

2.1.2 Analyse en mode MS/MS

Une fois que les composés ont été identifiés en mode MS, un fichier Excel est généré. Dans ce dernier, une liste de composés est établie, avec les masses des composés définis et leur temps de rétention correspondant. Ainsi, une analyse en mode « target MS/MS » est effectuée sur ces masses, pour confirmer les composés repérés au cours de la première étape.

Lors de l'acquisition en mode « target MS/MS », les paramètres de source, d'acquisition et les critères sont présentés Tableau 50.

Tableau 50 : Paramètres de source, d'acquisition et critères utilisés lors de l'analyse « target MS/MS » sur le LC-QOTF 6550 ifunnel.

| | | ESI (+) | ESI (-) |
|--------------------------|--------------------------------------|---|---|
| Paramètres source | Température du « sheat gas » (°C) | 390 | 350 |
| | Débit du « sheat gas » (L/min) | 12 | 12 |
| | Pression de nébulisation (psig) | 30 | 30 |
| | Tension au capillaire (V) | 3500 | 3500 |
| | Tension au « nozzle » (V) | 0 | 0 |
| | Température du gaz séchant (°C) | 200 | 200 |
| | Flow du gaz séchant (L/min) | 17 | 15 |
| | Fragmentor (V) | 365 | 365 |
| Paramètres d'acquisition | Gamme de masse (m/z) | 100-3000 | 100-3000 |
| | Références de calibration | 121,0508 et 922.00979 | 112,9855 ; 980,0163 ; 1033,9881 |
| | Nombre de scan ((spectre/sec) | 4 | 4 |
| | ifunnel (V) | Funnel Exit DC : 50 Funnel RF HP: 200 Funnel RF LP: 100 | Funnel Exit DC : 50 Funnel RF HP: 200 Funnel RF LP: 100 |
| Critères | Masse (m/z) | Narrow : 1,3 | Narrow : 1,3 |
| | Fenêtre des temps de rétention (min) | 0,25 | 0,25 |

Trois énergies de collisions ont été employées pour les critères de fragmentation par MS/MS: 10, 20 et 40 eV. Les données générées ont été comparées avec les bases de données de spectre MS/MS. Les critères d'identifications des composés ont été les suivantes :

- ✓ Score forward : 25 (rapport entre les spectres d'un composé (spectre expérimental) et ceux contenus dans la base de données. Il est généralement peu élevé car le spectre expérimental contient plus de bruit et donc de fragments parasites).
- ✓ Score reverse : 80 (rapport entre les spectres de la base de données et les spectres obtenus pour un composé dans l'échantillon)

A titre d'exemple, lorsque l'eau de STEP a été extraite sur la cartouche multicouche et analysée en ESI (+), sur un total de 150 détectés lors de la première analyse en mode « full scan », seuls 22 (composés définis comme « suspects ») ont effectivement été identifiés lors de la seconde analyse en MS/MS, en comparant les spectres de fragmentation, à des temps de rétention très proches de ceux obtenus en première injection (Tableau 51). Ces 22 composés sont donc probablement dans l'échantillon étudié (pour s'assurer de la présence réelle d'un composé, un étalon de celui-ci doit être injecté afin de vérifier que les temps de rétention sont identiques. Cette démarche n'a pas été effectuée lors de ces essais).

Le Tableau 51 montre qu'en ESI (+) le nombre de composés suspects est beaucoup plus élevé lorsque la cartouche multicouche a été employée par rapport à l'Oasis HLB (22 contre 7 contaminants) dans l'eau de STEP. Dans les extraits des matrices MilliQ et eau de rivière, seuls quelques surfactants ou plastifiants ont été retrouvés. En ESI (-), le nombre de contaminants retrouvés dans les différentes eaux en comparant les cartouches sont relativement semblables. Les mêmes observations qu'en ESI (+) sont faites, c'est-à-dire qu'un plus grand nombre de molécules est retrouvé dans l'eau de STEP.

Un bilan reprenant le nombre de suspects identifiés en première analyse et confirmés en deuxième analyse, est dressé Tableau 51.

Tableau 51 : Composés détectés et suspectés lorsque les échantillons ont été extraits sur la cartouche multicouche et Oasis HLB en mode positif et négatif (en italique) sur les matrices eau milliQ, d'Evian, de l'Oise et de STEP

| | | Multicouche | | HLB | | |
|---------|---|-------------|--------------------|--------------------------------------|------|--------------------|
| | Composés | rt | rT _{MS/M} | Composés | rt | rT _{MS/M} |
| | | scan | S | | scan | S |
| Milli Q | DBP / Di-n-butylphthalate (Dibutyl phthalate) | 12,8 | 12,8 | TPPA / Triphenyl phosphate | 12,5 | 12,5 |
| | Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) | 14,5 | 14,5 | Dibutyl phthalate | 12,8 | 12,8 |
| | TBEP / Tris(2-butoxyethyl) phosphate | 13,1 | 13,1 | TBEP / Tris(2-butoxyethyl) phosphate | 13,1 | 13,1 |
| | 9-Octadecenamamide (Oleamide) | 14,3 | 14,2 | 9-Octadecenamamide (Oleamide) | 14,2 | 14,2 |
| | Irganox 1076 | 15,7 | 15,7 | | | |
| Evian | | | | | | |
| Oise | Irbesartan | 10,1 | 9,9 | Irbesartan | 10,1 | 9,9 |
| | Celiprolol | 11,4 | 11,3 | Celiprolol | 11,4 | 11,3 |
| | Flecainide | 12,1 | 12 | Flecainide | 12,1 | 11,9 |
| ESI (+) | Iohexol | 5,4 | 5,3 | Gabapentin | 3,6 | 3,5 |
| | Olmesartan | 7,1 | 6,9 | Carbamazepine | 9 | 9 |
| | Valsartan | 8 | 7,7 | Lamotrigine | 9,1 | 9,1 |
| | Carbamazepine | 9 | 9 | Alprenolol | 9,8 | 9,7 |
| | Lamotrigine | 9,1 | 9,1 | Oxazepam | 10,6 | 10,6 |
| | Alprenolol | 9,8 | 9,7 | Amisulpride | 10,7 | 11,6 |
| | Irbesartan | 10,1 | 9,9 | Quinine | 13,3 | 13,7 |
| | Sitagliptin | 10,1 | 10,6 | | | |
| | Fexofenadine | 10,5 | 10,5 | | | |
| | Oxazepam | 10,6 | 10,5 | | | |
| | Amisulpride | 10,7 | 11,7 | | | |

| | | Multicouche | | HLB | | | |
|---------|---------|---|------|--------------------|---|------|--------------------|
| | | Composés | rt | rT _{MS/M} | Composés | rt | rT _{MS/M} |
| | | | scan | S | | scan | S |
| | | Cetirizine | 10,8 | 10,8 | | | |
| | | Telmisartan | 11,2 | 11,1 | | | |
| | | Zolpidem | 11,9 | 11,9 | | | |
| | | Climbazole | 12 | 11,9 | | | |
| | | Clindamycin | 12,3 | 12,4 | | | |
| | | Flecainide | 12,6 | 13 | | | |
| | | Quinine | 13,3 | 13,8 | | | |
| | | Methadone | 14 | 13,9 | | | |
| | | Erythromycin | 14,7 | 12,6 | | | |
| | | Roxithromycin | 15,1 | 16 | | | |
| | | Clarithromycin-N-oxide | 15 | 15,1 | | | |
| ESI (-) | Milli Q | Irganox 1076 | 15,7 | 15,6 | 4-tert-Octylphenol (4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol) | 12,5 | 12,5 |
| | | | | | Irganox 1076 | 15,7 | 15,6 |
| | | 4-tert-Octylphenol (4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol) | 12,5 | 12,5 | 4-Octylphenoxy acetic acid | 8,3 | 8,1 |
| | Evian | | | | 4-tert-Octylphenol (4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol) | 12,5 | 12,5 |
| | | | | | | | |
| | Oise | | | | | | |
| | | Sucralose | 6,1 | 6,1 | Sucralose | 6,1 | 6,1 |
| | | Niflumic acid | 8,8 | 8,6 | Valsartan | 7,9 | 7,7 |
| | STEP | Oxazepam | 10,6 | 10,5 | Irbesartan | 10,1 | 9,9 |
| | | Diuron | 10,7 | 10,7 | Oxazepam | 10,6 | 10,5 |

| Multicouche | | | HLB | | |
|---------------------|------|--------------------|---------------------|------|--------------------|
| Composés | rt | rT _{MS/M} | Composés | rt | rT _{MS/M} |
| | scan | S | | scan | S |
| <i>Bicalutamide</i> | 11,2 | 11,2 | <i>Diuron</i> | 10,7 | 10,7 |
| <i>Fipronil</i> | 12 | 12 | <i>Bicalutamide</i> | 11,2 | 11,2 |

Le bilan de ces analyses a permis de suspecter la présence d'un certain nombre de composés dans les différents échantillons étudiés, ce qui conforte l'utilisation de la méthode développée.

Synthèse sur la mise en œuvre méthodologique (préparation d'échantillon et séparation/détection) dans le cas d'approches d'analyses non-ciblées

Ce travail de thèse a permis de montrer les difficultés rencontrées pour les approches de type analyses non ciblées. Ainsi, sur la base de ces travaux, une proposition de workflow a pu être dressée, pour les étapes de préparation d'échantillon et de séparation.

Premièrement, la quantité des échantillons est un paramètre important. En effet, si le nombre d'échantillons est réduit (< 20), la SPE hors ligne peut être envisagée comme méthode de préconcentration. L'autre paramètre à prendre en compte est la complexité de la matrice en fonction de la cartouche SPE. Pour des matrices relativement propres, des cartouches multicouches peuvent être employées. Au contraire, pour des matrices chargées, l'utilisation de cartouches à base d'Oasis HLB est préférable.

Dans le cas où une information exhaustive est souhaitée, il serait préférable de réaliser une première extraction en Oasis HLB (pH = 3) et une seconde extraction en multicouche (pH = 6,7) pour des recherches approfondies. De plus, lors de la seconde extraction, l'utilisation de l'Oasis HLB (phase présente dans la cartouche multicouche) à pH = 6,7 peut être bénéfique pour l'extraction de certains composés. Cette approche doit cependant être appliquée seulement pour un nombre réduit d'échantillons car le temps de préparation et d'analyse est beaucoup plus long.

La SPE en ligne peut être envisagée, dans le cas où la quantité d'échantillon est supérieure à 20. Dans cette optique, l'emploi de la cartouche Oasis HLB semble suffisant, surtout pour la détection des composés ubiquistes. La cartouche multicouche ne servirait que pour des applications spécifiques. De plus, l'une des principales limites de la SPE en ligne est l'impact produit par les effets matriciels. Comme il a été signalé dans les chapitres précédents, la SPE

en ligne est une technique difficilement applicable pour des analyses multirésidus/multifamilles.

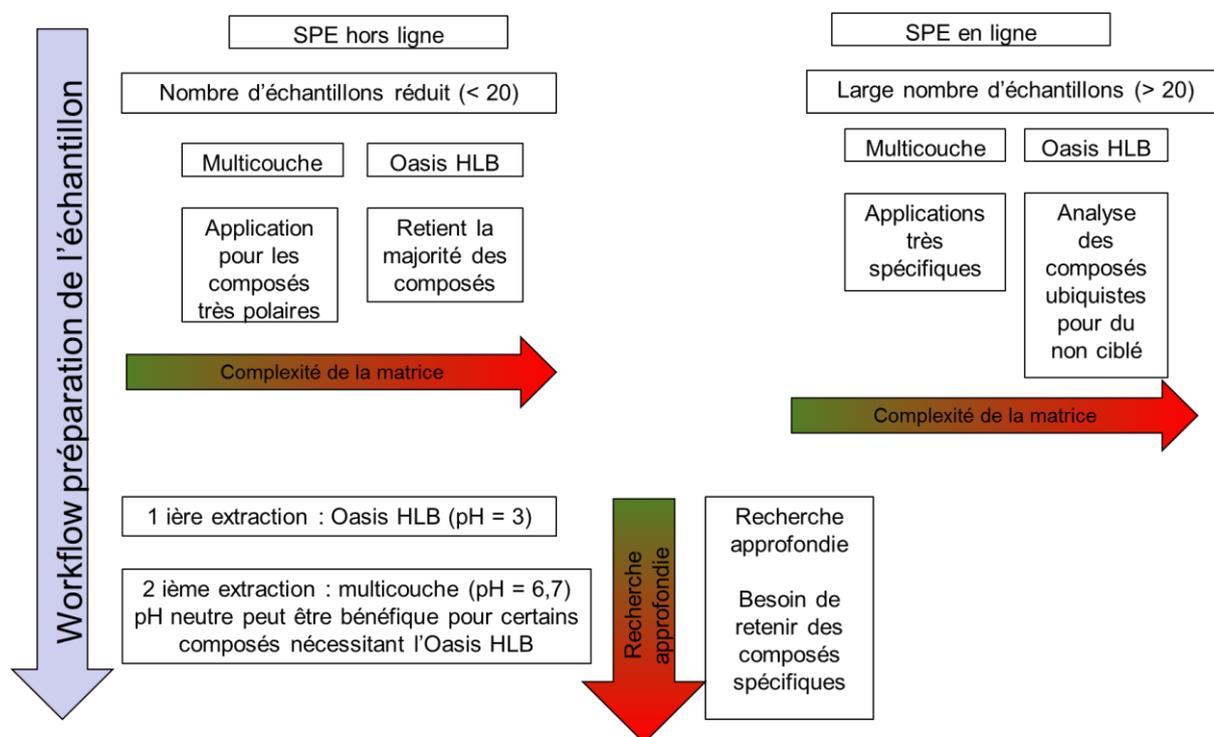


Figure 110 : Workflow pour la préparation de l'échantillon dans une approche d'analyse non-ciblée

Avec les extraits obtenus par SPE hors ligne, l'utilisation de la LC-HRMS avec une chromatographie liquide par C18 et HILIC et de la GC-MS permettrait d'étendre la gamme de composés à détecter. Cependant, ce type de méthodologie peut engendrer un traitement de données extrêmement long.

Grâce à l'utilisation de la LC-HRMS C18 et de la GC-MS, 80 % des composés de la liste ont été analysés. En termes d'efforts et de temps, ces deux méthodes sont alors suffisantes pour détecter une large majorité des contaminants.

Toutes ces propositions sont modulables suivant divers paramètres, tels que les objectifs de recherche fournis dès le départ, le temps imparti aux manipulations et des connaissances obtenues lors de essais préliminaires. A titre d'exemple, lors d'une analyse en C18, si la metformine est détectée dans le volume mort de la colonne, il serait conseillé de réaliser une analyse en HILIC afin d'obtenir une rétention suffisante ($k > 2$) pour la séparer de la matrice et s'assurer de la nature de l'identité de cette molécule (éviter un faux positif).

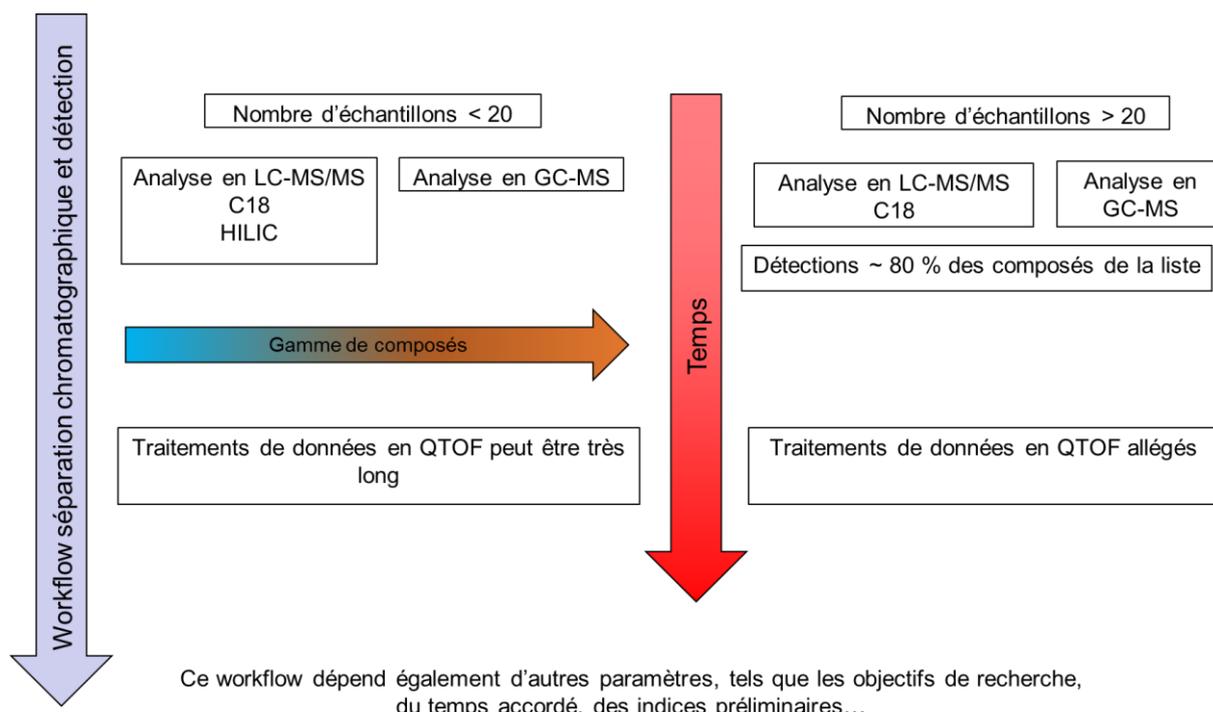


Figure 111: Workflow pour la séparation et détection (LC-HRMS et GC-MS) d'un extrait dans une approche d'analyse non-ciblée

Conclusion générale

Les connaissances en matière du niveau de pollution des milieux aquatiques doivent être améliorées afin de pouvoir mettre en place des mesures de protection adéquates.

Dans ce cadre, ces travaux de thèse avaient pour objectif le développement d'une méthode permettant l'analyse d'une large gamme de composés en vue d'une caractérisation de la contamination des fractions aqueuses des milieux aquatiques. Le but final étant de pouvoir disposer d'un protocole en mesure d'être adapté à une analyse non-ciblée.

Pour cela, les trois étapes clés du processus analytique ont été évaluées : la préparation d'échantillon, la partie séparative, et la détection.

L'étude bibliographique a montré que pour chacune de ces étapes, dans un but d'analyse multirésidus/non-ciblée, de nombreuses stratégies analytiques avaient été employées par les multiples groupes de recherche. Aucun consensus ne semblait ressortir sur une approche type. De plus, la très grande diversité physico-chimique des polluants retrouvés dans les milieux aquatiques, à des niveaux de traces, exige que des méthodes analytiques complémentaires puissent être utilisées, soit pour les composés apolaires analysés par GC/MS, soit pour les composés polaires ou semi-polaires, analysés en LC-MS/MS et pour lesquels des approches de préconcentration d'échantillon et de séparation adaptées sont nécessaires.

Afin de pouvoir mettre en œuvre une évaluation des performances des méthodes étudiées, une liste de composés modèles a été établie. Cette liste comprend des polluants représentatifs de différentes familles et de propriétés physico-chimiques très variées (de polaires à apolaires, neutres, acides ou basiques).

Une étude méthodologique sur la chromatographie couplée à la spectrométrie de masse a été réalisée sur la liste de composés. Ces essais ont révélé que pour tenter d'analyser tous les contaminants modèles, deux types d'instruments sont nécessaires :

- ✓ la GC-MS pour les molécules apolaires.
- ✓ la LC-MS/MS pour les composés polaires et semi-polaires.

Les résultats ont montré qu'en LC plusieurs types de colonnes, C18 et HILIC, doivent être employées pour retenir la majorité des molécules d'intérêt avec un $K > 2$. La colonne C18, de préférence greffée avec des groupements polaires, est très bien adaptée pour la séparation d'un maximum de composés pour les analyses multirésidus. Mais ce type de support ne permet pas la rétention de composés très polaires. Un support complémentaire, de type HILIC, doit être utilisé. Ces travaux ont cependant mis en évidence que des limites subsistent pour une rétention globale de tous les composés polaires.

Les contaminants présents dans les milieux aquatiques étant généralement retrouvés à l'état de traces (ng/L), une étape de préconcentration d'échantillon est indispensable. L'extraction SPE a été sélectionnée pour ces travaux. Les modes hors ligne et en ligne, offrant des avantages distincts, ont été ainsi évalués.

Les premiers essais ont été réalisés en SPE hors ligne. Pour cela, plusieurs cartouches SPE commerciales possédant différents types d'interactions (Oasis HLB, MCX, WCX, WAX et MAX) ont été testées. Les résultats ont confirmé qu'un type de cartouche n'était pas suffisant pour retenir une très large gamme de composés. Par conséquent, des cartouches regroupant plusieurs phases complémentaires ont également été évaluées (cartouches en série ou multicouche). Cette partie a permis de conclure que l'Oasis HLB était une cartouche généraliste capable d'extraire la majorité des composés. Toutefois, pour extraire un maximum de composés notamment les plus polaires, la cartouche multicouche [Oasis HLB + mélange SPE [Strata X-AW + Strata X-CW + Isolute ENV +]] a offert le meilleur compromis : elle a permis l'extraction simultanée de tous les composés modèles de la liste dans l'eau milliQ.

Les essais avec des matrices d'eau de source et de rivière ont montré que les effets de matrice étaient toutefois plus importants avec la cartouche multicouche par rapport à l'Oasis HLB. Dans ce cas, il peut être conclu que pour des matrices simples, c'est-à-dire peu chargées en contaminants, la cartouche multicouche offre les meilleures performances. En revanche, de meilleures extractions ont été obtenues avec la cartouche Oasis HLB pour dans des matrices plus complexes.

Pour des analyses multirésidus et non ciblées, le choix de la SPE hors ligne est une très bonne méthode d'extraction, étant donné que les étapes de processus sont maîtrisées. La

mise en place de cette technique est néanmoins longue et fastidieuse. De plus, la fabrication « à façon » de la cartouche multicouche requiert un temps non négligeable.

Afin d'améliorer le gain de temps, la SPE en ligne a été employée. Suite aux résultats obtenus sur les différentes cartouches en SPE hors ligne, les cartouches Oasis HLB et multicouche ont été sélectionnées pour ces développements. Le gradient chromatographique a été utilisé pour une élution des composés sur la cartouche Oasis HLB. Pour la cartouche multicouche, plusieurs éluions consécutives [$\text{H}_2\text{O} + \text{NH}_4\text{OH}$ (pH = 8,9) + $\text{H}_2\text{O} + \text{HCOOH}$ (pH = 2,6) + gradient chromatographique] ont été employées pour éluer les composés piégés vers la colonne analytique. Ainsi, un bilan a été dressé sur les performances obtenues avec un système SPE « classique » utilisant le support Oasis HLB et un système « à façon » employant la cartouche multicouche.

Les résultats recueillis pour les méthodes d'extraction SPE hors ligne et en ligne ont pu mettre en avant les avantages, les inconvénients et surtout les limites, pour ces deux modes d'extraction.

Les approches développées en SPE hors ligne et en chromatographie en phase liquide ont été évaluées en LC-QTOF lors de la participation à un essai inter-laboratoires NORMAN. Celui-ci concernait l'analyse des composés polaires et une application sur des eaux de complexités variées. Les résultats obtenus lors de cet essai ont permis de situer les performances développées pendant cette thèse parmi la moyenne des résultats obtenus par les partenaires.

Ces travaux ont également permis de démontrer qu'actuellement, il n'existe aucune méthode standardisée qui permette l'analyse simultanée de tous les contaminants en mettant en avant les limites qui persistent à l'obtention d'une méthode « universelle ».

Des perfectionnements du protocole de reconcentration en SPE hors ligne peuvent être envisagés pour améliorer la sensibilité de l'analyse. En effet, après que les composés soient retenus par la phase SPE, une étape de rinçage pourrait être ajoutée afin de réduire les effets de la matrice et le bruit de fond. Il faudra cependant contrôler que certains composés, surtout les plus hydrophiles, ne soient pas élués lors de cette étape. Le protocole de reprise des composés comprend une resolubilisation dans 1 mL de solvant. Un volume de reprise moins important pourrait être employé dans le but d'avoir une solution plus concentrée.

En SPE en ligne, après la concentration des composés en tête de colonne, une étape de rinçage pourrait également être ajoutée afin de limiter les effets de la matrice. Contrairement à la SPE hors ligne, la partie SPE en ligne LC-QqQ-MS HILIC n'a pas été développée et pourrait faire l'objet d'un travail approfondi en vue d'améliorer l'analyse des composés très polaires. L'utilisation de la SPE en ligne pour l'analyse des composés ubiquistes, dans une optique d'analyse non-ciblée pourrait être également explorée plus en détail.

Bibliographies

- Aerni H-R, Rutishauser B V, Wettstein FE, Fischer R, Giger W, Hungerbühler A, Marazuela DM, Peter A, Shönenberger R, Vögeli CA, Suter M, Eggen R. 2003. Combined biological and chemical assessment of estrogenic activities in wastewater treatment plant effluents. *Anal. Bioanal. Chem.* 378:688–696.
- Ahel M, Giger W, Koch M. 1994. Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-I. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Res.* 28:1131–1142.
- Ahmed S, Rasul MG, Brown R, Hashib MA. 2011. Influence of parameters on the heterogeneous photocatalytic degradation of pesticides and phenolic contaminants in wastewater: A short review. *J. Environ. Manage.* 92:311–330.
- Anderson CR, Rupp HS, Wu WH. 2005. Complexities in tetracycline analysis - Chemistry, matrix extraction, cleanup, and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1075:23–32.
- Andreozzi R, Marotta R, Paxéus N. 2003. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 50:1319–1330.
- ANSES. 2010. Exposition de la population générale aux résidus de pesticides en France : synthèse et recommandations du comité d'orientation et de prospective scientifique de l'observatoire des résidus de pesticides (ORP). Rapport ANSES.
- ANSES. 2011. Campagne nationale d'occurrence des composés alkyls perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine. Rapport ANSES.
- Anumol T, Snyder SA. 2014. Rapid analysis of trace organic compounds in water by automated online solid-phase extraction coupled to liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Talanta* 132:77–86.
- Arditsoglou A, Voutsas D, Braunbeck T. 2008. Determination of Phenolic and Steroid Endocrine Disrupting Compounds in Environmental Matrices. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 15:228–36.
- Arrêté du 7 Août. 2015. Arrêté du 7 août 2015 modifiant l'arrêté du 25 janvier 2010 établissant le programme de surveillance de l'état des eaux en application de l'article R. 212-22 du code de l'environnement.
- Axel M, Ewelina K, Jenny-Maria B, Leif K. 2017. An online SPE LC-MS/MS method for the analysis of antibiotics in environmental water. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24:8692–8699.
- Baker DR, Kasprzyk-Hordern B. 2011. 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.
- Ballesteros O, Zafra A, Navalón A, Vilchez JL. 2006. Sensitive gas chromatographic–mass spectrometric method for the determination of phthalate esters, alkylphenols, bisphenol A and their chlorinated derivatives in wastewater samples. *J. Chromatogr. A* 1121:1121–1154.
- Balmer ME, Buser H-R, Müller MD, Poiger T. 2005. Occurrence of Some Organic UV Filters in

Wastewater, in Surface Waters, and in Fish from Swiss Lakes. *Environ. Sci. Technol.* 39:953–962.

Baranowska I, Kowalski B. 2009. The Development of SPE Procedures and an UHPLC Method for the Simultaneous Determination of Ten Drugs in Water Samples. *Water, Air, Soil Pollut.* 211:417–425.

Battaglin WA, Sandstrom MW, Kuivila KM, Kolpin DW, Meyer MT, Battaglin WA, Sandstrom MW, Kuivila KM, Kolpin DW, Meyer MT. 2010. Occurrence of Azoxystrobin, Propiconazole, and Selected Other Fungicides in US Streams, 2005–2006. *Water, Air, Soil Pollut.* 218:307–322.

Beausse J. 2004. Selected drugs in solid matrices: A review of environmental determination, occurrence and properties of principal substances. *Trends Anal. Chem.* 23:753–761.

Becker AM, Gerstmann S, Frank H. 2008. Perfluorooctane surfactants in waste waters, the major source of river pollution. *Chemosphere* 72:115–21.

Becue A, Nguyen R. 2005. Etude de l'analyse des Alkylphénols. Rapport INERIS.

Benijts T, Dams R, Lambert W, De Leenheer A. 2004. Countering matrix effects in environmental liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry water analysis for endocrine disrupting chemicals. *J. Chromatogr. A* 1029:153–159.

Benotti M, Snyder S. 2009. Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds: Implications for Ground Water Replenishment with Recycled Water. *Ground Water* 47:499–502.

Bergé A. 2012. Identification des sources de phtalates et d'alkylphénols et de phtalates en milieu urbain. Manuscrit de thèse. Université Paris-Est.

Berryman D, Beaudoin J, Cloutier S, Laliberté D, Messier F, Tremblay H, Moissa AD. 2009. Les polybromodiphényléthers (PBDE) dans quelques cours d ' eau du Québec méridional et dans l'eau de consommation produite à deux stations de traitement d'eau potable. [accessed 2017 Jun 29]. http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/eco_aqua/toxique/Rapport_PBDE.pdf.

Berset JD, Rennie E, Glauner T. 2016. Screening and Identification of Emerging Contaminants in Wastewater Treatment Plant Effluents Using UHPLC / Q-TOF MS and an Accurate Mass Database and Library. Rapport Agilent.

BGB. BGB Analytik France S.A.S. [accessed 2017 Jun 29]. <https://www.bgb-info.com/>.

Biotage. ISOLUTE® ENV+. [accessed 2017 Jun 29]. <http://www.biotage.com/product-page/isolute-env>.

Blount BC, Milgram KE, Silva MJ, Malek NA, Reidy JA, Needham LL, Brock JW. 2000. Quantitative Detection of Eight Phthalate Metabolites in Human Urine Using HPLC-APCI-MS/MS. *Anal. Chem.* 72:4127–4134.

Borja J, Taleon DM, Auresenia J, Gallardo S. 2005. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochem.* 40:1999–2013.

Botta F, Dulio V. 2014. Etude sur les contaminants émergents dans les eaux françaises .

Résultats de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des DOM. Rapport INERIS.

Bouchoux G, Sablier M. 2005a. Spectrométrie masse - Principe et appareillage. Tech. l'ingénieur. P-2645.

Bouchoux G, Sablier M. 2005b. Spectrométrie masse- Applications. Tech. l'ingénieur. P-2646.

Brieudes V. 2014. Caractérisation de la contamination des systèmes aquatiques par les psychotropes : développement d'une méthode de référence incluant une démarche multifactorielle de hiérarchisation. Manuscrit de thèse. Université de Bordeaux.

Brignon J-M, Malherbe L, Soleille S. 2005. Les substances dangereuses prioritaires de la directive cadre sur l'eau. Rapport INERIS.

Brouwer ER, Lingeman H, Th Brinkman UA. 1990. Use of Membrane Extraction Disks for On-Line Trace Enrichment of Organic Compounds from Aqueous Samples. *Chromatographia* 29:415–418.

Bu Q, Wang D, Liu X, Wang Z. 2014. A high throughput semi-quantification method for screening organic contaminants in river sediments. *J. Environ. Manage.* 143:135–9.

Buchberger WW. 2010. Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment. *J. Chromatogr. A* 1218:603–618.

Burgess RM, Ho KT, Brack W, Lamoree M. 2013. Effects-directed analysis (EDA) and toxicity identification evaluation (TIE): Complementary but different approaches for diagnosing causes of environmental toxicity. *Environ. Toxicol. Chem.* 32:1935–1945.

Buszewski B, Noga S. 2011. Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)—a powerful separation technique. *Anal. Bioanal. Chem.* 402:231–247.

Camino-Sánchez FJ, Zafra-Gómez A, Pérez-Trujillo JP, Conde-González JE, Marques JC, Vilchez JL. 2011. Validation of a GC-MS/MS method for simultaneous determination of 86 persistent organic pollutants in marine sediments by pressurized liquid extraction followed by stir bar sorptive extraction. *Chemosphere* 84:869–81.

Carabias-Martinez R, Rodriguez-Gonzalo E, Herrero-Hernandez E, Javier Sanchez-San Roman R, Guadalupe Prado Flores M. 2002. Determination of herbicides and metabolites by solid-phase extraction and liquid chromatography Evaluation of pollution due to herbicides in surface and. *J. Chromatogr. A* 950:157–166.

Champeau M. 2017. Développement méthodologiques et applications dans le cadre de recherche non-ciblée de contaminants environnementaux dans les milieux aqueux. Rapport INERIS.

Chatellier C, Lestremau F. 2013. Analyse de composés perfluorés dans l'eau naturelle par extraction sur phase solide en ligne couplée à de la chromatographie en phase liquide/spectrométrie de masse. Rapport INERIS.

Chatellier C, Lestremau F. 2015. Etude sur l'amélioration des limites de quantification pour l'analyse des résidus médicamenteux de la DCE dans la phase aqueuse des eaux de surface. Partie 2 : évaluation du couplage SPE en ligne/LC/QTOF. Rapport INERIS.

- ChemSpider. 2017. ChemSpider | Search and share chemistry. [accessed 2017 May 11]. <http://www.chemspider.com/>.
- Chen M-X, Cao Z-Y, Jiang Y, Zhu Z-W. 2013. Direct determination of glyphosate and its major metabolite, aminomethylphosphonic acid, in fruits and vegetables by mixed-mode hydrophilic interaction/weak anion-exchange liquid chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1272:90–9.
- Chevrier C, Limon G, Monfort C, Rouget F, Garlantézec R, Petit C, Durand G, Cordier S. 2011. Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the pelagic birth cohort. *Environ. Health Perspect.* 119:1034–1041.
- Clara M, Gans O, Weiss S, Sanz-Escribano D, Scharf S, Scheffknecht C. 2009. Perfluorinated alkylated substances in the aquatic environment: An Austrian case study. *Water Res.* 43:4760–4768.
- Clara M, Scheffknecht C, Scharf S, Weiss S, Gans O, Clara AM. 2008. Emissions of perfluorinated alkylated substances (PFAS) from point sources—identification of relevant branches. *Water Sci. Technol.* 58:59–66.
- CLIN. 1999. Elimination des effluents effluents liquides des établissements hospitaliers. Rapport CLIN.
- Coquery M, Choubert J-M, Miège C. 2009. Synthèse des travaux du projet AMPERES. Rapport IRSTEA.
- Cotton J, Leroux F, Broudin S, Poirel M, Corman B, Junot C, Ducruix C. 2016. Development and validation of a multiresidue method for the analysis of more than 500 pesticides and drugs in water based on on-line and liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *Water Res.* 104:20–27.
- Crespo A. 2009. Présence et sources des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le Bassin d'Arcachon. Manuscrit de thèse. Université de Bordeaux.
- Creusot N. 2011. Contribution de l'approche effect directed analysis à l'identification de perturbateurs endocriniens dans les milieux aquatiques. Manuscrit de thèse. Université de Bordeaux.
- Creusot N, Aït-Aïssa S, Tapie N, Pardon P, Brion F, Sanchez W, Thybaud E, Porcher JM, Budzinski H. 2014. Identification of synthetic steroids in river water downstream from pharmaceutical manufacture discharges based on a bioanalytical approach and passive sampling. *Environ. Sci. Technol.* 48:3649–3657.
- Creusot N, Budzinski H, Balaguer P, Kinani S, Porcher JM, Aït-Aïssa S. 2013. Effect-directed analysis of endocrine-disrupting compounds in multi-contaminated sediment: Identification of novel ligands of estrogen and pregnane X receptors. *Anal. Bioanal. Chem.* 405:2553–2566.
- Creusot N, Tapie N, Piccini B, Patrick B, Porcher J-M, Budzinski H, Aït-Aïssa S. 2013. Distribution of steroid- and dioxin-like activities between sediments, POCIS and SPMD in a French river subject to mixed pressures. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20:2784–2794.
- Cruz JM. 2015. Etude de la contamination par les pesticides des milieux eau, air et sols : développement de nouveaux outils et application à l'estuaire de la Gironde. Manuscrit de

thèse. Université de Bordeaux.

Danezis GP, Anagnostopoulos CJ, Liapis K, Koupparis MA. 2016. Multi-residue analysis of pesticides, plant hormones, veterinary drugs and mycotoxins using HILIC chromatography – MS/MS in various food matrices. *Anal. Chim. Acta* 942:121–138.

Dargnat C, Fisson C. 2010. Qualité de l'eau et contaminations : Contamination par les PolyChloroBiphényles (PCB) dans l'estuaire de la Seine. Rapport Seine-Aval.

Dasenaki ME, Thomaidis NS. 2015. Multianalyte method for the determination of pharmaceuticals in wastewater samples using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 407:4229–4245.

Daughton CG, Ternes TA. 2009. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment. *Environ. Toxicol.* 28:2663–2670.

DCE. 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.

DCE. 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.

Deblonde T, Cossu-Leguille C, Hartemann P. 2011. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 214:442–448.

Díaz-Cruz MS, López De Alda MJ, Barceló D. 2003. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Anal. Chem.* 22:340–351.

Díaz R, Ibáñez M, Sancho J V., Hernández F. 2012. Target and non-target screening strategies for organic contaminants, residues and illicit substances in food, environmental and human biological samples by UHPLC-QTOF-MS. *Anal. Methods* 4:196–209.

Díaz R, Ibáñez M, Sancho J V, Hernández F. 2013. Qualitative validation of a liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry screening method for organic pollutants in waters. *J. Chromatogr. A* 1276:47–57.

Dinh QT, Alliot F, Moreau-Guignon E, Eurin J, Chevreuil M, Labadie P. 2011. Measurement of trace levels of antibiotics in river water using on-line enrichment and triple-quadrupole LC-MS/MS. *Talanta* 85:1238–1245.

Domínguez-Romero JC, García-Reyes JF, Molina-Díaz A. 2014. Comparative evaluation of seven different sample treatment approaches for large-scale multiclass sport drug testing in urine by liquid chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1361:34–42.

Emmett EA, Zhang H, Shofer FS, Freeman D, Rodway NV, Desai C, Shaw LM. 2006. Community Exposure to Perfluorooctanoate: Relationships Between Serum Levels and Certain Health Parameters. *J. Occup. Environ. Med.* 48:771–779.

Empreinte H2O. Les fondamentaux sur l'eau. [accessed 2017 May 3]. <http://www.empreinteh2o.com/faq.php>.

Escher BI, Baumgartner R, Koller M, Treyer K, Lienert J, Mcardell CS. 2011. Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. *Water Res.*

45:75–92.

Farré M, Pérez S, Kantiani L, Barceló D. 2008. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *Anal. Chem.* 27:991–1007.

Farré M, Martínez E, Barcelo D. 2008. Techniques de détermination organiques dans et appareillage l'environnement. *Tech. l'ingénieur.* P-3820

Fauvelle V, Mazzella N, Morin S, Moreira S, Delest B, Budzinski H. 2014. Hydrophilic interaction liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry for acidic herbicides and metabolites analysis in fresh water. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22:3988–3996.

Fauvelle V, Mazzella N, Morin S, Moreira S, Delest B, Budzinski H. 2015. Hydrophilic interaction liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry for acidic herbicides and metabolites analysis in fresh water. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22:3988–3996.

Fent K, Weston AA, Caminada D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat. Toxicol.* 76:122–159.

Ferrer I, Thurman EM, Zweigenbaum J. 2010. Ultrasensitive EPA Method 1694 with the Agilent 6460 LC/MS/MS with Jet Stream Technology for Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water. *Note d'application Agilent.*

Fontanals N, Borrull F, Marcé RM. 2013. On-line weak cationic mixed-mode solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-mass spectrometry to determine illicit drugs at low concentration levels from environmental waters. *J. Chromatogr. A* 1286:16–21.

Gervais G, Brosillon S, Laplanche A, Helen C. 2008. Ultra-pressure liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry for multiresidue determination of pesticides in water. *J. Chromatogr. A* 1202:163–172.

Giokas DL, Salvador A, Chisvert A. 2007. UV filters: From sunscreens to human body and the environment. *Anal. Chem.* 26:360–374.

Goh SXL, Duarah A, Zhang L, Snyder SA, Lee HK. 2016. Online solid phase extraction with liquid chromatography–tandem mass spectrometry for determination of estrogens and glucocorticoids in water. *J. Chromatogr. A* 1465:9–19.

Gómez M, Gómez-Ramos M, Malato O, Mezcua M, Fernández-Alba A. 2010. *c. J. Chromatogr. A* 1217:7038–7054.

Gómez MJ, Gómez-Ramos MM, Agüera A, Mezcua M, Herrera S, Fernández-Alba a R. 2009. A new gas chromatography/mass spectrometry method for the simultaneous analysis of target and non-target organic contaminants in waters. *J. Chromatogr. A* 1216:4071–82.

Gong P, Wang X, Sheng J, Yao T. 2010. Variations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in atmosphere of the Tibetan Plateau: Role of the monsoon system. *Atmos. Environ.* 44:2518–2523.

Gouzy A, Brignon J-M. Les PolyChloroBiphenyles (PCB). *Rapport INERIS.*

Gouzy A, Gay G, Masselot G. 2008. Évaluation des pesticides utilisés en bordure des voies de circulation routière. *Présentation INERIS.*

- Gracia-Lor E, Martínez M, Sancho J V, Peñ Uela G, Lix F, Ndez H. 2012. Multi-class determination of personal care products and pharmaceuticals in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 99:1011–1023.
- Grignon C, Venisse N, Rouillon S, Brunet B, Bacle A, Thevenot S, Migeot V, Dupuis A. 2016. Ultrasensitive determination of bisphenol A and its chlorinated derivatives in urine using a high-throughput UPLC-MS/MS method. *Anal. Bioanal. Chem.* 408:2255–2263.
- Gros M, Petrović M, Barceló D. 2006. Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70:678–690.
- Gros M, Petrović M, Barceló D. 2006. Multi-residue analytical methods using LC-tandem MS for the determination of pharmaceuticals in environmental and wastewater samples: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* 386:941–952.
- Guo J, Li Z, Sandy AL, Li A. 2014. Method development for simultaneous analyses of multiple legacy and emerging organic chemicals in sediments. *J. Chromatogr. A* 1370:1–8.
- Hale RC, Guardia MJ La, Harvey E, Gaylor MO, Mainor TM. 2006. Brominated flame retardant concentrations and trends in abiotic media. *Chemosphere* 64:181–186.
- Halling-Sorensen B, Nors Nielsen S, Lanzky P., Ingerslev F, Holten Lutzhoft H., Jorgensen S. 1998. Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment-A Review. *Chemosphere* 36:357–393.
- Hansen KJ, Johnson HO, Eldridge JS, Butenhoff JL, Dick LA. 2002. Quantitative Characterization of Trace Levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River. *Environ. Sci. Technol.* 36:1681–1685.
- Hao C, Morse D, Morra F, Zhao X, Yang P, Nunn B. 2011. Direct aqueous determination of glyphosate and related compounds by liquid chromatography/tandem mass spectrometry using reversed-phase and weak anion-exchange mixed-mode column. *J. Chromatogr. A* 1218:5638–5643.
- Hemain JC. 1987. La pollution des eaux pluviales, de quoi parle-t-on ? Rapport GRAIE.
- Hénault-Ethier L. 2010. Document d'information : l'atrazine , interdit en Europe , répandu au Canada. Rapport EQUITERRE.
- Hernández F, Sancho J V, Ibáñ Ez M, Guerrero C. 2007. Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS. *Anal. Chem.* 26:466–485.
- Heuett N V., Ramirez CE, Fernandez A, Gardinali PR. 2015. Analysis of drugs of abuse by online SPE-LC high resolution mass spectrometry: Communal assessment of consumption. *Sci. Total Environ.* 511:319–330.
- Hilton MJ, Thomas K V. 2003. Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1015:129–141.
- Hirsch R, Ternes TA, Haberer K, Mehlich A, Ballwanz F, Kratz KL. 1998. Determination of

antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 815:213–223.

Hogenboom AC, van Leerdam JA, de Voogt P. 2009. Accurate mass screening and identification of emerging contaminants in environmental samples by liquid chromatography-hybrid linear ion trap Orbitrap mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1216:510–9.

Hug C, Ulrich N, Schulze T, Brack W, Krauss M. 2014. Identification of novel micropollutants in wastewater by a combination of suspect and nontarget screening. *Environ. Pollut.* 184:25–32.

Huntscha S, Singer HP, McArdell CS, Frank CE, Hollender J. 2012. Multiresidue analysis of 88 polar organic micropollutants in ground, surface and wastewater using online mixed-bed multilayer solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1268:74–83.

Ibáñez M, Guerrero C, Sancho J V, Hernández F. 2009. Screening of antibiotics in surface and wastewater samples by ultra-high-pressure liquid chromatography coupled to hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1216:2529–39.

Ibáñez M, Sancho J V., Hernández F, McMillan D, Rao R. 2008. Rapid non-target screening of organic pollutants in water by ultraperformance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry. *TrAC Trends Anal. Chem.* 27:481–489.

Ibáñez M, Sancho J V, Pozo OJ, Niessen W, Hernández F. 2005. Use of quadrupole time-of-flight mass spectrometry in the elucidation of unknown compounds present in environmental water. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19:169–178.

Isidori M, Lavorgna M, Nardelli A, Parrella A, Previtiera L, Rubino M. 2005. Ecotoxicity of naproxen and its phototransformation products. *Sci. Total Environ.* 348:93–101.

Jeon H-K, Chung Y, Ryu J-C. 2006. Simultaneous determination of benzophenone-type UV filters in water and soil by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1131:192–202.

Kadokami K, An SP, Anh DTH, Xuehua LI, Iyazaki TM. 2012. Development of a Comprehensive Analytical Method for Semi-Volatile Organic Compounds in Sediments by Using an Automated Identification and Quantification System with a GC-MS Database. *Anal. Chem.* 28:1183–1189.

Kameda Y, Kimura K, Miyazaki M. 2011. Occurrence and profiles of organic sun-blocking agents in surface waters and sediments in Japanese rivers and lakes. *Environ. Pollut.* 159:1570–1576.

Kampioti A a, Borba da Cunha AC, López de Alda M, Barceló D. 2005. Fully automated multianalyte determination of different classes of pesticides, at picogram per litre levels in water, by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 382:1815–1825.

Kern S, Fenner K, Singer HP, Schwarzenbach RP, Hollender J. 2009. Identification of transformation products of organic contaminants in natural waters by computer-aided prediction and high-resolution mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 43:7039–7046.

- Khim JS, Lee KT, Villeneuve DL, Kannan K, Giesy JP, Koh CH. 2001. In vitro bioassay determination of dioxin-like and estrogenic activity in sediment and water from Ulsan Bay and its vicinity, Korea. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40:151–160.
- Kovalova L, McArdell CS, Hollender J. 2009. Challenge of high polarity and low concentrations in analysis of cytostatics and metabolites in wastewater by hydrophilic interaction chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1216:1100–1108.
- Krauss M, Singer H, Hollender J. 2010. LC-high resolution MS in environmental analysis: from target screening to the identification of unknowns. *Anal. Bioanal. Chem.* 397:943–951.
- Kucka M, Pogrmic-Majkic K, Fa S, Stojilkovic SS, Kovacevic R. 2012. Atrazine acts as an endocrine disrupter by inhibiting cAMP-specific phosphodiesterase-4. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 265:19–26.
- Kunisue T, Wu Q, Tanabe S, Aldous KM, Kannan K. 2010. Analysis of five benzophenone-type UV filters in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Methods* 2:707–713.
- Kupper T, Plagellat C, Brä RC, De Alencastro LF, Grandjean D, Tarradellas J. 2006. Fate and removal of polycyclic musks, UV filters and biocides during wastewater treatment. *Water Res.* 40:2603–2612.
- Lachassagne D. 2014. Devenir de micropolluants présents dans les boues d'épuration, du traitement à l'épandage agricole : application aux micropolluants métalliques (Cd, Cu) et organiques (médicaments) issus du traitement biologique conventionnel d'effluents urbains ou hospitalière. Manuscrit de thèse. Université de Limoges.
- Laganà A, Bacaloni A, De Leva I, Faberi A, Fago G, Marino A. 2004. Analytical methodologies for determining the occurrence of endocrine disrupting chemicals in sewage treatment plants and natural waters. *Anal. Chim. Acta* 501:79–88.
- Lai J-P, Niessner R, Knopp D. 2004. Benzo[a]pyrene imprinted polymers: synthesis, characterization and SPE application in water and coffee samples. *Anal. Chim. Acta* 522:137–144.
- Lazartigues A. 2010. Pesticides et polyculture d'étang : de l'épandage sur le bassin versant aux résidus dans la chair de poisson. Manuscrit de thèse. Université de Nancy.
- Léonço D, Chatellier C, Beaumont J, Devier M-H, Lestremau F, Budzinski H. 2017. Evaluation of off-line solid phase extraction approaches for the pre-concentration of a wide range of environmental pollutants in water matrices. Article en préparation.
- Lestremau F. 2014. Analyse de substances polaires dans la phase aqueuse. Rapport INERIS.
- Lestremau F, Chatellier C. 2014. Hexabromocyclododécane (HBCDD) Méthode d 'analyse dans les biotes (poisson). Rapport INERIS.
- Liang N, Huang P, Hou X, Li Z, Tao L, Zhao L. 2016. Solid-phase extraction in combination with dispersive liquid-liquid microextraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis: the ultra-trace determination of 10 antibiotics in water samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 408:1701–1713.
- Lien PNH, Fujii S, Tanaka S, Nozoe M, Tanaka H. 2008. Contamination of perfluorooctane

sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in surface water of the Yodo River basin (Japan). *Desalination* 226:338–347.

Lin AY-C, Reinhard M. 2005. Photodegradation of Common Environmental Pharmaceuticals and Estrogens in River Water. *Environ. Toxicol. Chem.* 24:1303–1309.

Lindberg R, Wennberg P, Johansson MI, Tysklind M, Andersson BA V. 2005. Screening of Human Antibiotics Substances and Determination of Weekly Mass Flows in Five Sewage Treatment Plants in Sweden. *Environ. Sci. Technol.* 39:3421–3429.

Liu Y-S, Ying G-G, Shareef A, Kookana RS. 2012. Occurrence and removal of benzotriazoles and ultraviolet filters in a municipal wastewater treatment plant. *Environ. Pollut.* 165:225–232.

Loos R, Locoro G, Comero S, Contini S, Schwesig D, Werres F, Balsa P, Gans O, Weiss S, Blaha L, Bolchi M, Gawlik BM. 2010. Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Res.* 44:4115–26.

Managaki S, Murata A, Takada H, Tuyen BC, Chiem NH. 2007. Distribution of Macrolides, Sulfonamides, and Trimethoprim in Tropical Waters: Ubiquitous Occurrence of Veterinary Antibiotics in the Mekong Delta. *Environ. Sci. Technol.* 41:8004–8010.

Marteau C. 2012. Retardateurs de flamme bromés : Métabolites actifs et biomarqueurs d'exposition chez l'Homme. Manuscrit de thèse. Université de Toulouse.

Masiá A, Ibáñez M, Blasco C, Sancho J V, Picó Y, Hernández F. 2013. Combined use of liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry and liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry in systematic screening of pesticides and other contaminants in water samples. *Anal. Chim. Acta* 761:117–27.

Meyer-Monath M, Chatellier C, Cabooter D, Rouget F, Morel I, Lestremau F. 2015. Development of liquid chromatography methods coupled to mass spectrometry for the analysis of substances with a wide variety of polarity in meconium. *Talanta* 138:231–239.

Meyer M. 2014. Exposition foetale à différentes familles de xénobiotiques en Bretagne : analyse de la matrice méconium. Manuscrit de thèse. Université de Rennes.

Miao X-S, Koenig BG, Metcalfe CD. 2002. Analysis of acidic drugs in the effluents of sewage treatment plants using liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 952:139–147.

Miquel G. 2003. La qualité de l'eau et de l'assainissement en France. Rapport OPECST n° 215.

Mokh S. 2013. Optimisation de techniques analytiques pour caractériser les antibiotiques dans les systèmes aquatiques. Manuscrit de thèse. Université de Bordeaux.

Moreta C, Tena MT. 2010. Determination of UV filters in packaging by focused ultrasonic solid-liquid extraction and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1218:3392–3399.

Moschet C, Lew BM, Hasenbein S, Anumol T, Young TM. 2017. LC- and GC-QTOF-MS as Complementary Tools for a Comprehensive Micropollutant Analysis in Aquatic Systems. *Environ. Sci. Technol.* 51:1553–1561.

Mulbry W, Kearney PC. 1991. Degradation of pesticides by micro-organisms and the

potential for genetic manipulation. *Crop Prot.* 10:336–346.

Müller A, Schulz W, Ruck WKL, Weber WH. 2011. A new approach to data evaluation in the non-target screening of organic trace substances in water analysis. *Chemosphere* 85:1211–1219.

Mulot J-U. 2009. Modélisation des flux de médicaments dans les effluents hospitaliers. Manuscrit de thèse. Université Paris-Sud 11.

Munoz G, Giraudel JL, Botta F, Lestremau F, Devier M-H, Budzinski H, Labadie P. 2015. Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: A French nationwide survey. *Sci. Total Environ.* 517:48–56.

Navarro-Ortega A, Tauler R, Lacorte S, Barceló D. 2010. Occurrence and transport of PAHs, pesticides and alkylphenols in sediment samples along the Ebro River Basin. *J. Hydrol.* 383:5–17.

Net S, Rabodonirina S, Sghaier R Ben, Dumoulin D, Chbib C, Tlili I, Ouddane B. 2015. Distribution of phthalates, pesticides and drug residues in the dissolved, particulate and sedimentary phases from transboundary rivers (France–Belgium). *Sci. Total Environ.* 521–522:152–159.

Nödler K, Licha T, Bester K, Sauter M. 2010. Development of a multi-residue analytical method, based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry, for the simultaneous determination of 46 micro-contaminants in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 1217:6511–6521.

NORMAN. Welcome to the NORMAN network. [accessed 2017 Sep 19]. <http://www.norman-network.net/>.

Nortes-Mendez R, Robles-Molina J, Lopez-Blanco R, Vass A, Molina-Diaz A, Garcia-Reyes JF. 2016. Determination of polar pesticides in olive oil and olives by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry and high resolution mass spectrometry. *Talanta* 158:222–228.

Nurmi J, Pellinen J. 2011. Multiresidue method for the analysis of emerging contaminants in wastewater by ultra performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1218:6712–6719.

OFSP. 2008. Les hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP). Rapport OFSP.

Olmos-Espejel, José J, García De Llasera MP, Velasco-Cruz M. 2012. Extraction and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and benzo[a]pyrene metabolites in microalgae cultures by off-line/on-line methodology based on matrix solid-phase dispersion, solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1262:138–147.

ONEMA. 2012. De la qualité des milieux aquatiques dépendent de nombreux services rendus à la société. [accessed 2017 Apr 20]. http://www.onema.fr/sites/default/files/pdf/4_conn2_qualite_vbat_1.pdf.

Pailler J-Y, Krein A, Pfister L, Hoffmann L, Guignard C. 2009. Solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of sulfonamides, tetracyclines, analgesics and hormones in surface water and wastewater in Luxembourg. *Sci. Total Environ.*

407:4736–4743.

Paustenbach DJ, Panko JM, Scott PK, Unice KM. 2007. A Methodology for Estimating Human Exposure to Perfluorooctanoic Acid (PFOA): A Retrospective Exposure Assessment of a Community (1951–2003). *J. Toxicol. Environ. Health* 70:28–57.

Pelajic M, Pecek G, Mutavdzic Pavloviic D, Vitali Cepo D. 2016. Novel multiresidue method for determination of pesticides in red wine using gas chromatography-mass spectrometry and solid phase extraction. *Food Chem.* 200:98–106.

Pena-Abaurrea M, Ye F, Blasco J, Ramos L. 2012. Evaluation of comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. *J. Chromatogr. A* 1256:222–31.

Petrovic M, Farré M, de Alda ML, Perez S, Postigo C, Köck M, Radjenovic J, Gros M, 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, Gonzalez S, Barceló D. 2003. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 22:685–696.

Pichon V. 2006. Extraction sur phase solide pour l'analyse de composés organiques. *Tech. l'ingénieur.* P-1420

PIREN Seine. 2009. La micropollution organique dans le bassin de la Seine. Programme Interdisciplinaire de Recherche sur l'Environnement de la Seine. Rapport PIREN-Seine.

Pitarch E, Cervera MI, Portolés T, Ibàñez M, Barreda M, Renau-Prunonosa A, Morell I, Lopez F, Albarràn F, Hernández F. 2016. Comprehensive monitoring of organic micro-pollutants in surface and groundwater in the surrounding of a solid-waste treatment plant of Castellon, Spain. *Sci. Total Environ.* 548–549:211–220.

Plagellat C, Kupper T, Furrer R, Felipe De Alencastro L, Grandjean D, Tarradellas J. 2005. Concentrations and specific loads of UV filters in sewage sludge originating from a monitoring network in Switzerland. *Chemosphere* 62:915–925.

Planetoscope. 2017. Statistiques : Consommation de pesticides phytosanitaires en France. [accessed 2017 May 22]. <https://www.planetoscope.com/sols/47-consommation-de-pesticides-phytosanitaires-en-france.html>.

Polesello S, Quevauviller P. 2014. Techniques analytiques pour les polluants émergents. *Tech. l'ingénieur.* P-4240

Pouech C, Tournier M, Quignot N, Kiss A, Wiest L, Lafay F, Flament-Waton MM, Lemazurier E, Cren-Olivé C. 2012. Multi-residue analysis of free and conjugated hormones and endocrine disruptors in rat testis by QuEChERS-based extraction and LC-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 402:2777–2788.

R van der Wal EH, Brouwer ER, Lingeman H, Th Brinkman UA. 1994. On-Line Trace Enrichment -Column Liquid Chromatography of Polar Pollutants in Surface Water Using Bifunctional Membrane-Based Extraction-Disk Cartridges. *Chromatographia* 39:239–245.

Reemtsma T, Alder L, Banasiak U. 2013a. A multimethod for the determination of 150 pesticide metabolites in surface water and groundwater using direct injection liquid

- chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1271:95–104.
- Reemtsma T, Alder L, Banasiak U. 2013b. Emerging pesticide metabolites in groundwater and surface water as determined by the application of a multimethod for 150 pesticide metabolites. *Water Res.* 47:5535–5545.
- Reyes-Perez E. 2009. Chimie multiphasique des pesticides dans l'air : distribution et photoréactivité. Manuscrit de thèse. Université de Strasbourg.
- Robles-Molina J, Lara-Ortega FJ, Gilbert-López B, García-Reyes JF, Molina-Díaz A. 2014. Multi-residue method for the determination of over 400 priority and emerging pollutants in water and wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1350:30–43.
- Rodil R, Moeder M. 2008. Development of a method for the determination of UV filters in water samples using stir bar sorptive extraction and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1179:81–88.
- Rodil R, Quintana JB, López-Mahía P, Muniategui-Lorenzo S, Prada-Rodríguez D. 2009. Multi-residue analytical method for the determination of emerging pollutants in water by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1216:2958–2969.
- Rodriguez-Mozaz S, Lopez De Alda MJ, Barceló DA. 2007. Advantages and limitations of on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography–mass spectrometry technologies versus biosensors for monitoring of emerging contaminants in water. *J. Chromatogr. A* 1152:97–115.
- Rogers HR. 1996. Sources, behaviour and fate of organic contaminants during sewage treatment and in sewage sludges. *Sci. Total Environ.* 185:3–26.
- Rouessac F, Rouessac A. 2009. *Analyse Chimique*. Dunond, editor. Livre.
- Rubirola A, Boleda R, Galceran T. 2017. Multiresidue analysis of 24 Water Framework Directive priority substances by on-line solid phase extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometry in environmental waters. *J. Chromatogr. A* 1493:64–75.
- Vom Saal FS, Hughes C. 2005. An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Environ. Health Perspect.* 113:926–933.
- Satinsky D, Linda N, Fernández-Ramos C, Solich P. 2015. An on-line SPE-HPLC method for effective sample preconcentration and determination of fenoxycarb and cis, trans-permethrin in surface waters. *Talanta* 142:124–130.
- Schwarzenbach RP, Gschwend PM, Imboden DM. 2003. *Environmental Organic Chemistry*. [accessed 2017 May 9]. [http://www.chemistry.uoc.gr/courses/xhm405/04 Environmental Organic Chemistry.pdf](http://www.chemistry.uoc.gr/courses/xhm405/04%20Environmental%20Organic%20Chemistry.pdf).
- Schymanski EL, Singer HP, Longre P, Loos M, Ru M, Stravs MA, Ripolle C, Hollender J. 2014. Strategies to Characterize Polar Organic Contamination in Wastewater: Exploring the Capability of High Resolution Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 48:1811–1818.
- Segura P a., MacLeod SL, Lemoine P, Sauvé S, Gagnon C. 2011. Quantification of

carbamazepine and atrazine and screening of suspect organic contaminants in surface and drinking waters. *Chemosphere* 84:1085–1094.

Seifrtová M, Nováková L, Lino C, Pena A, Solich P. 2009. An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. *Anal. Chim. Acta* 649:158–179.

Senta I, Krizman I, Ahel M, Terzic S. 2015. Multiresidual analysis of emerging amphetamine-like psychoactive substances in wastewater and river water. *J. Chromatogr. A* 1425:204–212.

Shivakoti BR, Tanaka S, Fujii S, Kunacheva C, Boontanon SK, Musirat C, Seneviratne STMLD, Tanaka H. 2010. Occurrences and behavior of perfluorinated compounds (PFCs) in several wastewater treatment plants (WWTPs) in Japan and Thailand. *J. Environ. Monit.* 12:1255–1264.

Shoemaker JA. 2016. Development and Multi-laboratory Verification of US EPA Method 543 for the Analysis of Drinking Water Contaminants by Online Solid Phase Extraction-LC-MS-MS. *J. Chromatogr. Sci.* 54:1532–1539.

Shultz MM, Higgins CP, Huset CA, Luthy RG, Barofsky D, Field JA. 2006. Fluorochemical Mass Flows in a Municipal Wastewater Treatment Facility. *Environ. Sci. Technol.* 40:7350–7357.

SIEPAB. Site du Syndicat Intercommunal d'Eau Potable et d'Assainissement du Bugeon - La planète bleue. [accessed 2017 May 2]. http://www.siepab.fr/monde_eau2.aspx.

Silvia Díaz-Cruz M, Barceló D. 2009. Chemical analysis and ecotoxicological effects of organic UV-absorbing compounds in aquatic ecosystems. *Trends Anal. Chem.* 28:708–717.

Sinclair E, Kannan K. 2006. Mass Loading and Fate of Perfluoroalkyl Surfactants in Wastewater Treatment Plants. *Environ. Sci. Technol.* 40:12201–509.

Singh SP, Dwivedi N, Siva K, Raju R, Taneja I, Wahajuddin M. 2016. Validation of a Rapid and Sensitive UPLC–MS-MS Method Coupled with Protein Precipitation for the Simultaneous Determination of Seven Pyrethroids in 100 μ L of Rat Plasma by Using Ammonium Adduct as Precursor Ion. *J. Anal. Toxicol.* 40:213–221.

Souchier M, Benali-Raclot D, Benanou D, Boireau V, Gomez E, Casellas C, Chiron S. 2014. Screening triclocarban and its transformation products in river sediment using liquid chromatography and high resolution mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* 502:199–205.

Spectrométrie de masse. Spectrométrie de masse, principe et applications. [accessed 2017 Sep 20]. <http://masse-spec.fr/>.

Su Y, Hung H, Blancharda P, Patton GW, Kallenborn R, Konoplev A, Fellin P, Li H, Geen C, Stern G, Rosenberg B, Barrie LA. 2008. A circumpolar perspective of atmospheric organochlorine pesticides (OCPs): Results from six Arctic monitoring stations in 2000–2003. *Atmos. Environ.* 42:4682–4698.

Sumpter JP. 2005. Endocrine disrupters in the aquatic environment: An overview. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 33:9–16.

Tlili I, Caria G, Ouddane B, Ghorbel-Abid I, Ternane R, Trabelsi-Ayadi M, Net S. 2016. Simultaneous detection of antibiotics and other drug residues in the dissolved and particulate phases of water by an off-line SPE combined with on-line SPE-LC-MS/MS: Method

- development and application. *Sci. Total Environ.* 563–564:424–433.
- Togola A, Baran N, Coureau C. 2014. Advantages of online SPE coupled with UPLC/MS/MS for determining the fate of pesticides and pharmaceutical compounds. *Anal. Bioanal. Chem.* 406:1181–1191.
- Togola A, Budzinski H. 2007. Analytical development for analysis of pharmaceuticals in water samples by SPE and GC–MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 388:627–635.
- Togola A, Budzinski H. 2008. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 1177:150–158.
- Tran K Van, Shia JC, Young MS. 2002. Fast and Sensitive UPLC / MS (MS) Determination of Diquat and Paraquat in Drinking Water. Note d’application Waters.
- Union des Industries de la Protection des Plantes. 2009. La culture ne vit que de progrès. Rapport UIPP.
- Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons W V. 2007. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod. Toxicol.* 24:139–177.
- Vanderford BJ, Pearson RA, Rexing DJ, Snyder SA. 2003. Analysis of Endocrine Disruptors, Pharmaceuticals, and Personal Care Products in Water Using Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 75:6265–6274.
- Verlicchi P, Al Aukidy M, Galletti A, Petrovic M, Barceló D. 2012. Hospital effluent: Investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. *Sci. Total Environ.* 430:109–118.
- Vieno N, Tuhkanen T, Kronberg L. 2007. Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland. *Water Res.* 41:1001–1012.
- Villaverde-De-Sáa E, Fernández-López M, Rodil R, Quintana JB, Racamonde I, Cela R. 2015. Solid-phase extraction of perfluoroalkylated compounds from sea water. *J. Sep. Sci.* 38:1942–1950.
- Wang Y, Li S, Zhang F, Lu Y, Yang B, Zhang F, Liang X. 2016. Study of matrix effects for liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometric analysis of 4 aminoglycosides residues in milk. *J. Chromatogr. A* 1437:8–14.
- Waters. 2015. Sample preparation. Waters. [accessed 2017 Jun 2]. <http://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/lcSP.pdf>.
- Wells G, Prest H, William C, Iv R. 2011. Signal, bruit, et limites de détection en spectrométrie de masse Groupe analyse chimique. Rapport Agilent.
- Wells MJ, Zhou Yu L. 2000. Solid-phase extraction of acidic herbicides. *J. Chromatogr. A* 885:237–250.
- Wode F, Reilich C, van Baar P, Dünnbier U, Jekel M, Reemtsma T. 2012. Multiresidue analytical method for the simultaneous determination of 72 micropollutants in aqueous samples with ultra high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1270:118–26.
- Xu R, Wu J, Liu Y, Zhao R, Chen B, Yang M, Chen J. 2011. Analysis of pesticide residues using

the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in traditional Chinese medicine by gas chromatography with electron capture detection. *Chemosphere* 84:908–912.

Yang S, Carlson K. 2003. Evolution of antibiotic occurrence in a river through pristine, urban and agricultural landscapes. *Water Res.* 37:4645–4656.

Yao B, Lian L, Pang W, Yin D, Chan SA, Song W. 2016. Determination of illicit drugs in aqueous environmental samples by online solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 160:208–215.

Yu CH, Patel B, Palencia M, Fan Z (Tina). 2017. A sensitive and accurate method for the determination of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in human serum using a high performance liquid chromatography-online solid phase extraction-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1480:1–10.

Zenker A, Schmutz H, Fent K. 2008. Simultaneous trace determination of nine organic UV-absorbing compounds (UV filters) in environmental samples. *J. Chromatogr. A* 1202:64–74.

Zhang ZL, Hibberd A, Zhou JL. 2006. Optimisation of derivatisation for the analysis of estrogenic compounds in water by solid-phase extraction gas chromatography–mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 577:52–61.

Zhang ZL, Zhou JL. 2007. Simultaneous determination of various pharmaceutical compounds in water by solid-phase extraction–liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1154:205–213.

Zhu W, Yang J, Wang Z, Wang C, Liu Y, Zhang L. 2016. Rapid determination of 88 veterinary drug residues in milk using automated TurborFlow online clean-up mode coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 148:401–411.

Zuccato E, Castiglioni S, Fanelli R. 2005. Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *J. Hazard. Mater.* 122:205–209.

Annexes

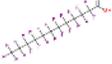
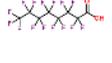
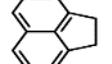
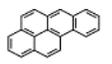
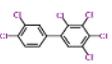
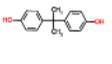
Annexe 1 : Synthèse des différentes conditions chromatographique (UHPLC-MS)

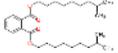
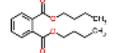
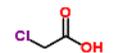
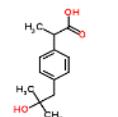
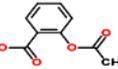
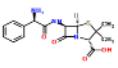
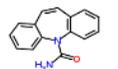
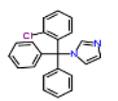
| Référence | Injection (µL) | Débit (mL/min) | Tps _{analyse} (min) | Equilibre (min) | T°C _{colonne} | Solvant A | Solvant B |
|-----------------------------|----------------|----------------|------------------------------|-----------------|------------------------|--|---|
| (Reemtsma et al. 2013a) | 100 | 0,25 | 34 | 10 | 30 | Eau Milli-Q/ MeOH (90/10) + 0,02 % (35mM) d'acide acétique (ph = 3,1) Eau Milli-Q/ MeOH (90/10) + 0,2 % (3,5mM) d'acide acétique (ph = 3,6) Eau Milli-Q/ MeOH (90/10) + 0,2 % (35mM) d'acide acétique et (5,2) d'acétate d'ammonium (ph = 4,1) | Eau Milli-Q/ MeOH (10/90) + 0,02 % (35mM) d'acide acétique Eau Milli-Q/ MeOH (10/90) + 0,2 % (35mM) d'acide acétique Eau Milli-Q/ MeOH ((10/90) + 0,2 % (35mM) d'acide acétique et (5,2) d'acétate d'ammonium |
| (Robles-Molina et al. 2014) | 20 | 0,5 | 28 | 10 | - | Eau Milli-Q + 0,1 % acide formique | MeOH + 0,1 % d'acide formique |
| (Nurmi and Pellinen 2011) | 5 | 0,45 | 14,1 | - | 35 | ESI (+) : Eau Milli-Q + 5 mM ammonium bicarbonate, ph : 9,5 (ph ajuster ac NH3 (aq)) ESI (-) : Eau Milli-Q + 0,05 % acide acétique | ESI (+) : MeOH ESI (-) : MeOH + 0,05 % acide acétique |
| (Diaz et al. 2013) | 5 | 0,3 | 18 | 12 | 60 | Eau Milli-Q + 0,01 % d'acide formique | MeOH + 0,01 % d'acide formique |
| (Huntscha et al. 2012) | - | 0,3 | 36 | - | 30 | Eau Milli-Q + 5 mM acétate d'ammonium | MeOH + 0,1 % d'acide formique |
| (Kampioti et al. 2005) | 20 | - | 45 | 13 | - | Eau Milli-Q | ACN |
| (Gómez et al. 2010) | 20 | 0,6 | 17 | 7 | - | ACN + 5 % Eau Milli-Q + 0,1 % d'acide formique | Eau Milli-Q + 0,1 % d'acide formique (pH = 3,5) |
| (Masiá et al. 2013) | 5 | 0,4 | 15,5 | 12 | 30 | Eau Milli-Q + 10 nM de formiate d'ammonium | MeOH + 10 nM de formiate d'ammonium |
| (Masiá et al. 2013) | 5 | 0,3 | 18 | 12 | 40 | Eau Milli-Q + acide formique 0,01 % | MeOH + acide formique 0,01 % |
| (Wode et al. 2012) | 100 | 0,6 | 15 | 3 | 30 | Eau Milli-Q + 1 % MeOH+0,1 % d'acide formique | MeOH + 0,1 % d'acide formique |
| (Díaz et al. 2012) | 50 | 0,3 | 18 | 2 | 60 | Eau Milli-Q + 0,1 % d'acide formique | MeOH+ 0,1 % d'acide formique |
| (Hug et al. 2014) | 10 | 0,2 | 41 | 9 | - | Eau Milli-Q + 0,1 % d'acide formique | MeOH+ 0,1 % d'acide formique |
| (Hogenboom et al. 2009) | - | 0,3 | 50 | 15 | 21 | ESI (+) : Eau Milli-Q + 0,05 % d'acide formique ESI (-) : 0,05 % de formate ammonium | ESI (+) et ESI (-) : ACN |

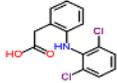
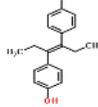
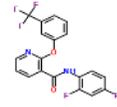
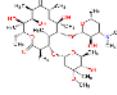
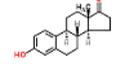
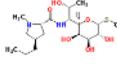
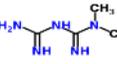
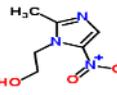
| Référence | Injection (μL) | Débit (mL/min) | Tps _{analyse} (min) | Equilibre (min) | T°C _{colonne} | Solvant A | Solvant B |
|--------------------------------------|----------------------------|----------------|------------------------------|-----------------|------------------------|---|--|
| (Nödler et al. 2010) | 100 | 0,2 | 45 | 11 | 30 | Eau Milli-Q + 0,015 % d'acide formique + 5 % MeOH | MeOH |
| (Loos et al. 2010) | - | 0,25 | - | - | - | Eau Milli-Q + 0,1 % d'acide acétique | ACN |
| (Kovalova et al. 2009) | ESI (-) : 5 ESI (+) : 2 | 0,2 | ESI (-) : 37 ESI (+) : 30 | - | 35 | 30 mM d'acétate d'ammonium + ACN (2/3) | ACN |
| (Rodil et al. 2009) | 10 | 0,2 | ESI (+) : 47 ESI (-) : 42 | - | 45 | ESI (+) : Eau Milli-Q + 5 mM d'acétate d'ammonium ESI (-) : H ₂ O/MeOH (90/10) + 1 mM de TrBA + 1 mM d'acide acétique | ESI (+) : MeOH + 5 mM d'acétate d'ammonium ESI (-) : H ₂ O/MeOH (10/90) + 1 mM de TrBA + 1 mM d'acide acétique |
| (Ibáñez et al. 2009) | 10 | 0,3 | 8 | - | 40 | Eau Milli-Q + 0,01 % d'acide formique | MeOH |
| (Souchier et al. 2014) ²⁰ | 10 | 0,3 | 25 | 10 | 25 | Eau Milli-Q | MeOH |
| (Fauvelle et al. 2014) | 5 | 0,2 | 9 | - | 25 | Eau + 20 mM d'acetate d'ammonium | ACN et MeOH |
| (Nortes-Mendez et al. 2016) | - | 0,3 | 16 | - | - | Eau + 100 mM de formate ammonium (pH = 2.85) | ACN + 0,1 % HCOOH |
| (Danezis et al. 2016) | 10 | 0,5 | 17 | 6 | 35 | Eau + 50 mM de formate d'ammonium | Eau/ACN (10/90) |

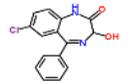
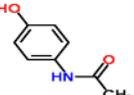
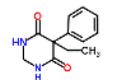
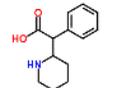
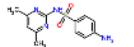
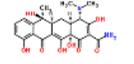
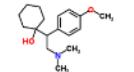
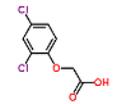
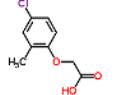
²⁰ Matrice sédiment

Annexe 2: Présentation des propriétés physico-chimiques (log D à pH = 3 et 6,7 ; pKa ; pKb) des composés modèles sélectionnés pour ces travaux de thèse (ChemSpider 2017)

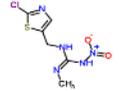
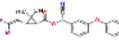
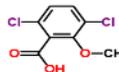
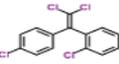
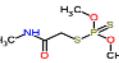
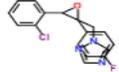
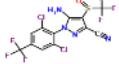
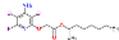
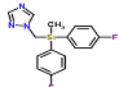
| Famille | Composés | Pureté | CAS | Log D (pH=3) | Log D (pH=6,7) | pKa | pKb | Structure moléculaire |
|--------------------------------------|---|-------------------------|------------|--------------|----------------|-------|-----|---|
| Alkyles perfluorés | Heptadecafluoro-N-methyl-1-octanesulfonamide (N-MEFOSA) | 50µg/mL dans MeOH | 31506-32-8 | 4,97 | 4,14 | 3,47 | - |  |
| Alkyles perfluorés | Acide perfluorododécanoïque (PFDoA) | 97 | 307-55-1 | 4,56 | 4,56 | -5,25 | - |  |
| Alkyles perfluorés | Acide perfluorooctanesulfonique (PFOS) | 40 | 1763-23-1 | 3,08 | 3,08 | -3,32 | - |  |
| Alkyles perfluorés | Acide perfluorooctanoïque (PFoA) | 96 | 335-67-1 | 1,81 | 1,81 | -4,2 | - |  |
| Filtres UV | 2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate (octinoxate) | 99.4 | 5466-77-3 | 5,35 | 5,35 | - | - |  |
| Hydrocarbure Aromatique Polycyclique | Acénaphthène | 100 | 83-32-9 | 3,53 | 3,53 | - | - |  |
| Hydrocarbure Aromatique Polycyclique | Benzo(a)pyrène | 99.5 at 10 µg/mL in ACN | 50-32-8 | 5,3 | 5,3 | - | - |  |
| PCB | 2,3,3',4,4',5-H6CB (PCB 156) | 100 | 38380-08-4 | 7,32 | 7,32 | - | - |  |
| Plastifiants | Bisphénol A | 99.8 | 80-05-7 | 4,24 | 4,24 | 9,78 | - |  |

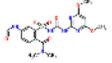
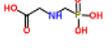
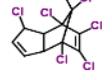
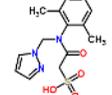
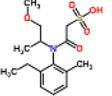
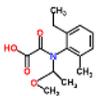
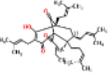
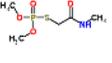
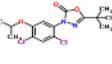
| Famille | Composés | Pureté | CAS | Log D (pH=3) | Log D (pH=6,7) | pKa | pKb | Structure moléculaire |
|--------------------------|---------------------------|--------|------------|-----------------|-------------------|-------|------|---|
| Plastifiants | Diisodecyl phthalate | 100 | 26761-40-0 | 9,75 | 9,75 | - | - |  |
| Plastifiants | Di-n-butylphthalate (DBP) | 99 | 84-74-2 | 4,6 | 4,6 | - | - |  |
| Plastifiants | Irganox 1076 | 99 | 2082-79-3 | 12,5 | 12,5 | 10,75 | - |  |
| Produit de désinfection | Acide monochloroacétique | 99.3 | 79-11-8 | 0,48 | -3,12 | 3,06 | - |  |
| Produits pharmaceutiques | 1-Hydroxy Ibuprofène | 99.6 | 53949-53-4 | 2,7 | 0,6 | 4,55 | - |  |
| Produits pharmaceutiques | Acide acétylsalicylique | 99.5 | 50-78-2 | 1,47 | -2,13 | 3,41 | - |  |
| Produits pharmaceutiques | Ampicilline | 100 | 69-53-4 | -1,55 | -3,54 | 3,24 | 7,23 |  |
| Produits pharmaceutiques | Carbamazépine | 99.9 | 298-46-4 | 2,65 | 2,65 | 15,96 | - |  |
| Produits pharmaceutiques | Clotrimazole | 99.6 | 23593-75-1 | 5,88 | 5,93 | 6,26 | - |  |

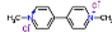
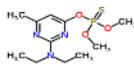
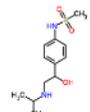
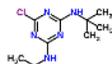
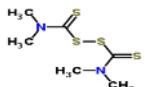
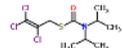
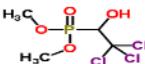
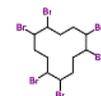
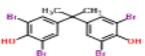
| Famille | Composés | Pureté | CAS | Log D (pH=3) | Log D (pH=6,7) | pKa | pKb | Structure moléculaire |
|--------------------------|--------------------|--------|------------|-----------------|-------------------|-------|------|---|
| Produits pharmaceutiques | Cyclophosphamide | 100 | 15307-79-6 | -0,15 | -0,15 | 13,43 | 0,08 |  |
| Produits pharmaceutiques | Diclofénac | 100 | 15307-79-6 | 4,49 | 1,6 | 4 | - |  |
| Produits pharmaceutiques | Diéthylstilbestrol | 99.9 | 56-53-1 | 5,27 | 5,27 | 8,63 | - |  |
| Produits pharmaceutiques | Diflufénican | 98 | 83164-33-4 | 5,15 | 5,15 | 13,28 | 0,6 |  |
| Produits pharmaceutiques | Erythromycine | 86.4 | 114-07-8 | -0,09 | 2,37 | 12,45 | 8,38 |  |
| Produits pharmaceutiques | Estrone | 99.3 | 53-16-7 | 4,43 | 4,43 | 10,33 | - |  |
| Produits pharmaceutiques | Lincomycine | 100 | 7179-49-9 | -3,45 | -1,47 | 3,24 | 8,41 |  |
| Produits pharmaceutiques | Metformine | 99.8 | 1115-70-4 | -5,23 | -5,23 | 12,33 | - |  |
| Produits pharmaceutiques | Métronidazole | 99.9 | 443-48-1 | -0,47 | -0,47 | 15,43 | -0,5 |  |

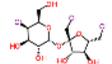
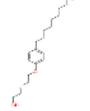
| Famille | Composés | Pureté | CAS | Log D (pH=3) | Log D (pH=6,7) | pKa | pKb | Structure moléculaire |
|--------------------------|---|--------|------------|-----------------|-------------------|-------|-------|---|
| Produits pharmaceutiques | Oxazépam | 98 | 604-75-1 | 3 | 3 | 10,41 | -1,47 |  |
| Produits pharmaceutiques | Paracétamol | 99.8 | 103-90-2 | 0,96 | 0,96 | 9,46 | - |  |
| Produits pharmaceutiques | Primidone | 100.0 | 125-33-7 | 0,71 | -2,89 | 11,5 | |  |
| Produits pharmaceutiques | Acide ritalinique | 98.6 | 19395-41-6 | -0,49 | 0,22 | 3,73 | 10,08 |  |
| Produits pharmaceutiques | Sulfaméthazine | 99.9 | 57-68-1 | 0,66 | 0,13 | 6,99 | 2 |  |
| Produits pharmaceutiques | Tétracycline | 98 | 60-54-8 | -3,55 | -3,55 | 2,92 | 8,19 |  |
| Produits pharmaceutiques | Venlafaxine | 99.99 | 9930-78-4 | -0,35 | 0,97 | 14,42 | 8,91 |  |
| Produits phytosanitaires | Acide 2,4-dichlorophenoxyacétique (2,4 D) | 98 | 94-75-7 | 2,71 | -0,89 | 3,36 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Acide 2-méthyl-4-chlorophenoxyacétique (2,4 MCPA) | 99.2 | 97-74-6 | 2,61 | -0,99 | 2,81 | - |  |

| Famille | Composés | Pureté | CAS | Log D (pH=3) | Log D (pH=6,7) | pKa | pKb | Structure moléculaire |
|--------------------------|------------------------------------|--------|-------------|-----------------|-------------------|-------|------|--------------------------|
| Produits phytosanitaires | 4-Methylbenzylidène camphor (4-MC) | 100 | 36861-47-9 | 5,1 | 5,1 | - | - | |
| Produits phytosanitaires | Acétamipride | 99.5 | 135410-20-7 | 0,27 | 1,11 | 4,16 | - | |
| Produits phytosanitaires | Acétochlore | 96 | 34256-82-1 | 3,43 | 3,43 | - | - | |
| Produits phytosanitaires | Aminotriazole | 99.9 | 61-82-5 | -0,3 | -0,3 | 9,49 | 4,77 | |
| Produits phytosanitaires | Asulame | 97.10 | 3337-71-1 | 0,68 | -2,82 | 2,95 | 2,02 | |
| Produits phytosanitaires | Atrazine- 2-hydroxy | 98.98 | 2163-68-0 | -2,84 | -2,85 | 12,48 | - | |
| Produits phytosanitaires | Bentazone | 99.9 | 25057-89-0 | 0,71 | 0,2 | 2,03 | - | |
| Produits phytosanitaires | Bromoxynil | 98.2 | 1689-84-5 | 3 | 1,5 | 5,11 | - | |
| Produits phytosanitaires | Ciprofloxacin | 99 | 85721-33-1 | -1,06 | -0,36 | 5,76 | 8,68 | |

| Famille | Composés | Pureté | CAS | Log D (pH=3) | Log D (pH=6,7) | pKa | pKb | Structure moléculaire |
|--------------------------|---|----------------------------|-------------|-----------------|-------------------|-------|-----|---|
| Produits phytosanitaires | Clothianidine | 99.7 | 210880-92-5 | 0,33 | 0,33 | 0,41 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Deltaméthrine | 99.7 | 52918-63-5 | 5,7 | 5,7 | 10,65 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Dicamba | 99.9 | 1918-00-9 | 2,22 | -0,66 | 2,54 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Dichlorodiphényldichloroethylene-o,p' (DDE) | 99.7 at 99.9 µg/mL in MeOH | 3424-82-6 | 6,02 | 6,02 | - | - |  |
| Produits phytosanitaires | Diméthoate | 99.5 | 60-51-5 | 0,2 | 0,2 | 15,93 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Epoxiconazole | 99.2 | 106325-08-0 | 3,84 | 3,84 | 2 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Fipronil | 99.7 | 120068-37-3 | 4,43 | 4,43 | 0,18 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Fluroxypyr-meptyl | 99 | 81406-37-3 | 4,86 | 4,86 | - | - |  |
| Produits phytosanitaires | Flusilazole | 99.8 | 85509-19-9 | 4,7 | 4,7 | 2,32 | - |  |

| Famille | Composés | Pureté | CAS | Log D (pH=3) | Log D (pH=6,7) | pKa | pKb | Structure moléculaire |
|--------------------------|-------------------|----------------------------|-------------|-----------------|-------------------|-------|------|---|
| Produits phytosanitaires | Foramsulfuron | 97.7 | 173159-57-4 | 0,45 | -0,35 | 1,31 | 0,25 |  |
| Produits phytosanitaires | Glyphosate | 98 | 1071-83-6 | -3,35 | -6,55 | -0,58 | 6,34 |  |
| Produits phytosanitaires | Heptachlore | 99.3 | 76-44-8 | 4,92 | 4,92 | - | - |  |
| Produits phytosanitaires | Métazachlore ESA | 98 | 172960-62-2 | -0,45 | -0,92 | -0,98 | 2,34 |  |
| Produits phytosanitaires | Métolachlore ESA | 95.8 | 947601-85-6 | -0,35 | -0,35 | -0,68 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Métolachlor » OXA | 98 | 152019-73-3 | 2,32 | -0,48 | 3,21 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Nicosulfuron | 99.6 | 111991-09-4 | 0,76 | -0,15 | 4,98 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Ométhoate | 98 at 100 µg/mL in acetone | 1113-02-6 | -0,68 | -0,68 | 15,46 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Oxadiazon | 99.9 | 19666-30-9 | 5,29 | 5,29 | - | - |  |

| Famille | Composés | Pureté | CAS | Log D (pH=3) | Log D (pH=6,7) | pKa | pKb | Structure moléculaire |
|--------------------------|--------------------------------|--------|------------|-----------------|-------------------|-------|------|---|
| Produits phytosanitaires | Paraquat | 99 | 75365-73-0 | -6,7 | -6,7 | - | - |  |
| Produits phytosanitaires | Pirimiphos-méthyle | 99.3 | 29232-93-7 | 1,3 | 2,94 | 5,09 | - |  |
| Produits phytosanitaires | Sotalol | 99.7 | 959-24-0 | -2,91 | -2,37 | 10,07 | 9,43 |  |
| Produits phytosanitaires | Terbuthylazine | 98.8 | 5915-41-3 | -1,51 | 0,77 | 14,17 | 3,18 |  |
| Produits phytosanitaires | Thiram | 99.8 | 137-26-8 | 2,75 | 2,75 | - | - |  |
| Produits phytosanitaires | Tri-allate | 99 | 2303-17-5 | 3,8 | 3,8 | - | - |  |
| Produits phytosanitaires | Trichlorfon | 97 | 52-68-6 | 1,2 | 1,2 | 10,12 | - |  |
| Retardateur de flamme | Hexabromocyclododécane (HBCDD) | 100 | 25637-99-4 | 5,82 | 5,82 | - | - |  |
| Retardateur de flamme | Tetrabromo bisphénol A (TBBPA) | 99.0 | 79-94-7 | 7,31 | 5,61 | 6,57 | - |  |

| Famille | Composés | Pureté | CAS | Log D (pH=3) | Log D (pH=6,7) | pKa | pKb | Structure moléculaire |
|---------------------|---------------------------------------|---------------------------|--------------|-----------------|-------------------|-------|-----|---|
| Sucres | Sucralose | 99.2 | 56038-13-2 | -0,46 | -0,46 | 11,91 | - |  |
| Surfactants/Phénols | 4-nonylphenol diéthoxylate (NPE2O) | 99 at 100 µg/L in acetone | 1173021-42-5 | 5,25 | 5,25 | - | - |  |
| Surfactants/Phénols | 4-nonylphenol | 99 | 104-40-5 | 5,92 | 5,92 | 10,31 | - |  |

Annexe 3 : Transitions MRM obtenues pour l'analyse des composés modèles sur l'Acquity UPLC H-Class (Waters) et couplé à un triple quadropole (Acquity TQ Detector, Waters)

| Famille | Composés | Méthode Chromatographique | Mode D'ionisation | Masse molaire (m/z) | Ion précurseur (m/z) | Ion de quantification (m/z) Ion de qualification (m/z) | E col |
|-------------------------|---|---------------------------|-------------------|---------------------|----------------------|---|-------|
| Produit pharmaceutique | 1-Hydroxy Ibuprofène | LC-QqQ | ESI + | 222,13 | 205,24 | 163,1 | 14 |
| | | | | | | 159,1 | 14 |
| PCB | 2,3,3',4,4',5-H6CB (PCB 156) | GC-MS | E.I | 360,90 | - | 360 153 | SIM |
| Pesticide et métabolite | 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) | LC-QqQ | ESI - | 221,00 | 219,00 221,00 | 161 | 18 |
| | | | | | | 163 | |
| Pesticide et métabolite | 2-méthyl-4-chlorophénoxyacétique 2,4 MCPA | LC-QqQ | ESI - | 200,60 | 219,00 221,10 | 141,1 | 19 |
| | | | | | | 143 | 17 |
| Pesticide | 4-Méthylbenzylidène camphor (4-MC) | LC-QqQ | ESI + | 254,17 | 255,38 | 171,1 | 20 |
| | | | | | | 212,1 | |
| Surfactant | 4-nonylphenol | GC-MS | E.I | 220,20 | - | 107 | SIM |
| | | | | | | 220 | |
| HAP | Acénaphthène | GC-MS | E.I | 154,10 | - | 154 | SIM |
| | | | | | | 132 | |
| Pesticide | Acétamipride | LC-QqQ | ESI + | 222,07 | 223,15 | 126,1 | 21 |
| | | | | | | 99 | 38 |
| Pesticide | Acétochlore | GC-MS | E.I | 269,12 | - | 146 | SIM |
| | | | | | | 272 | |
| Produit pharmaceutique | Acide acétilsalicylique | LC-QqQ | ESI - | 180,04 | 137,11 | 93,00 | 13 |
| Produit de désinfection | Acide monochloroacétique | LC-QqQ | ESI - | 93,98 | 93,00 | SIM | SIM |
| Produit pharmaceutique | Acide ritalinique | LC-QqQ | ESI + | 219,30 | 220,20 | 84,10 | 31 |
| | | | | | 221,20 | | |
| Pesticide | Aminotriazole | LC-QqQ | ESI + | 84,04 | 85,02 | SIM | SIM |
| Produit pharmaceutique | Ampicilline | LC-QqQ | ESI + | 349,11 | 350,21 | 106,1 | 20 |
| | | | | | | 161 | 13 |
| Pesticide et métabolite | Asulam | LC-QqQ | ESI + | 230,20 | 131,2 | 156 | 16 |
| | | | | | 253,2 | 92,1 | 39 |
| Pesticide et métabolite | Atrazin- 2-hydroxy | LC-QqQ | ESI + | 197,20 | 198,20 | 156,2 | 27 |
| | | | | | | 114,2 | 30 |
| Pesticide et métabolite | Bentazon | LC-QqQ | ESI - | 240,80 | 239,10 | 132,1 | 40 |
| | | | | | | 197 | 31 |
| HAP | Benzo(a)pyrène | GC-MS | E.I | 252,10 | - | 252 | SIM |
| | | | | | | 318 | |
| Plastifiant | Bisphénol A | LC-QqQ | ESI - | 228,12 | 227,20 | 212 | 20 |
| | | | | | | 133 | 26 |
| Pesticide | Bromoxynil | LC-QqQ | ESI - | 274,86 | 276,00 | 79 | 30 |
| | | | | | | 81,25 | |
| Produit pharmaceutique | Carbamazépine | LC-QqQ | ESI + | 236,09 | 237,10 | 194,1 | 20 |
| | | | | | | 179 | 35 |
| Produit pharmaceutique | Ciprofloxacin | LC-QqQ | ESI + | 331,30 | 332,30 | 314,2 | 39 |
| | | | | | | 288,5 | 29 |
| Pesticide | Clothianidin | LC-QqQ | ESI + | 249,01 | 250,11 | 169,1 | 13 |
| | | | | | | 132 | 14 |
| Produit pharmaceutique | Clotrimazole | LC-QqQ | ESI + | 344,11 | 277,20 | 165,15 | 22 |
| | | | | | | 241,2 | |
| Produit pharmaceutique | Cyclophosphamide | LC-QqQ | ESI + | 260,02 | 261,16 | 140,05 | 20 |
| | | | | | | 106,1 | 22 |
| Plastifiant | DBP | LC-QqQ | | 278,34 | 548,50 | 475,4 | 12 |
| | | | | | | 419,3 | |
| Pesticide | Deltaméthrine | LC-QqQ | ESI + | 502,97 | 506,00 | 281 | 12 |
| | | | | | | 253 | 22 |
| Pesticide | Dicamba | LC-QqQ | ESI - | 219,97 | 175,10 | 145,00 | 5 |
| | | | | | | | |
| Pesticide | Dichlorodiphényldichloroethylene-o,p' (DDE) | GC-MS | E.I | 315,90 | - | 246 | SIM |
| | | | | | | 362 | |
| Produit pharmaceutique | Diclofénac | LC-QqQ | ESI + | 295,02 | 296,00 | 214 | 34 |
| | | | | | | 215 | 34 |

| Famille | Composés | Méthode Chromatographique | Mode D'ionisation | Masse molaire (m/z) | Ion précurseur (m/z) | Ion de quantification (m/z) Ion de qualification (m/z) | E col |
|-------------------------|----------------------|---------------------------|-------------------|---------------------|----------------------|---|----------|
| Produit pharmaceutique | Diéthylstilbestrol | LC-QqQ | ESI - | 268,15 | 267,20 | 251,1 237 | 26 |
| Produit pharmaceutique | Diflufénican | LC-QqQ | ESI + | 394,07 | 395,20 | 266,03 182,99 | 22 54 |
| Plastifiant | Diisodécyl phthalate | LC-QqQ | ESI + | 446,34 | 447,46 | 141,1 289,2 | 13 11 |
| Pesticide | Diméthoate | LC-QqQ | ESI + | 229,00 | 230,12 | 199 125 | 10 22 |
| Pesticide | Epoxiconazole | LC-QqQ | ESI + | 329,07 | 330,23 | 121 123 | 21 22 |
| Produit pharmaceutique | Erythromycine | LC-QqQ | ESI + | 733,46 | 734,60 | 158,1 576,2 | 37 19 |
| Produit pharmaceutique | Estrone | LC-QqQ | ESI - | 270,16 | 269,32 | 145,07 159,01 | 38 34 |
| Pesticide | Fipronil | LC-QqQ | ESI - | 435,94 | 435,23 | 330 250 | 18 25 |
| Pesticide | Fluroxypr-meptyl | LC-QqQ | ESI + | 366,09 | 367,28 | 255 209 | 11 26 |
| Pesticide | Flusilazole | LC-QqQ | ESI + | 315,10 | 316,29 | 247,3 219,2 | 19 30 |
| Pesticide et métabolite | Foramsulfuron | LC-QqQ | ESI + | 452,40 | 453,30 | 182,2 83 | 38 74 |
| Pesticide | Heptachlor | GC-MS | E.I | 369,80 | - | 100 250 | SIM |
| Plastifiant | Irganox 1076 | LC-QqQ | | 530,86 | 279,30 | 149 205,1 | 19 10 |
| Produit pharmaceutique | Lincomycine | LC-QqQ | ESI + | 406,21 | 407,34 | 126,1 359,2 | 39 18 |
| Pesticide et métabolite | Méolachlor ESA | LC-QqQ | ESI + | 329,40 | 330,30 | 298,4 202,2 | 25 34 |
| Pesticide et métabolite | Métazachlor ESA | LC-QqQ | ESI + | 323,40 | 324,20 | 69,2 253,2 | 22 21 |
| Produit pharmaceutique | Metformine | LC-QqQ | ESI + | 129,10 | 130,14 | 60,03 71,04 | 14 20 |
| Pesticide et métabolite | Métolachlor OXA | LC-QqQ | ESI + | 279,30 | 280,30 | 248,3 73,1 | 25 34 |
| Produit pharmaceutique | Métronidazole | LC-QqQ | ESI + | 171,06 | 172,10 | 128 82 | 14 26 |
| Pesticide et métabolite | Nicosulfuron | LC-QqQ | ESI + | 410,40 | 411,20 | 182,1 213,3 | 29 33 |
| Surfactant | NPE2O | LC-QqQ | ESI + | 308,24 | 326,00 | 183 121 | 10 |
| Filtre UV | Octinoxate | LC-QqQ | ESI + | 290,19 | 291,30 | 179 161 | 8 18 |
| Pesticide et métabolite | Ométhoate | LC-QqQ | ESI + | 213,20 | 214,00 | 182,9 124,9 | 20 30 |
| Pesticide | Oxadiazon | LC-QqQ | ESI + | 344,07 | 362,20 | 345,2 303,1 | 11 22 |
| Produit pharmaceutique | Oxazépam | LC-QqQ | ESI + | 286,05 | 287,16 | 269,1 241,1 | 16 22 |
| Produit pharmaceutique | Paracétamol | LC-QqQ | ESI + | 151,06 | 152,14 | 110 93 | 18 23 |
| Alkyles perfluoré | PFDoA | LC-QqQ | ESI - | 613,96 | 613,08 | 569,1 169 | 10 26 |
| Alkyles perfluoré | PFoA | LC-QqQ | ESI - | 414,10 | 413,10 | 369,2 169 | 18 30 |
| Alkyles perfluoré | PFOS | LC-QqQ | ESI - | 499,93 | 499,07 | 79,88 98,89 | 46 40 |
| Pesticide | Pirimiphos-méthyl | LC-QqQ | ESI + | 305,10 | 306,30 | 108,07 164,05 | 32 24 |
| Produit pharmaceutique | Primidone | LC-QqQ | ESI + | 218,30 | 219,20 | 162,2 119,2 | 20 27 |
| Pesticide et métabolite | Sotalol | LC-QqQ | ESI + | 272,40 | 273,00 | 255,3 213,2 | 21 28 |
| Sucre | Sucralose | LC-QqQ | ESI + | 397,60 | 412,2 | 199,1 | 25 |

| Famille | Composés | Méthode Chromatographique | Mode D'ionisation | Masse molaire (m/z) | Ion précurseur (m/z) | Ion de quantification (m/z) Ion de qualification (m/z) | E col |
|-------------------------|----------------|---------------------------|-------------------|---------------------|----------------------|---|-------|
| Produit pharmaceutique | Sulfaméthazine | LC-QqQ | ESI + | 278,30 | 416,2 | 201,1 | 26 |
| | | | | | 279,30 | 186,2 | 30 |
| Retardateur de flamme | TBBPA | LC-QqQ | ESI - | 539,76 | 542,84 | SIM | SIM |
| Pesticide et métabolite | Terbutylazine | LC-QqQ | ESI + | 229,70 | 230,2 | 174,2 | 25 |
| | | | | | 232,2 | 176,2 | |
| Produit pharmaceutique | Tétracycline | LC-QqQ | ESI + | 444,15 | 445,27 | 410,2 | 18 |
| | | | | | | 427,2 | 14 |
| Pesticide | Thiram | LC-QqQ | ESI + | 239,99 | 241,07 | 88 | 20 |
| | | | | | | 120 | |
| Pesticide | Tri-allate | LC-QqQ | ESI + | 303,00 | 306,00 | 86 | 14 |
| | | | | | | 145 | 26 |
| Pesticide | Trichlorfon | LC-QqQ | ESI + | 255,92 | 259,09 | 223 | 11 |
| | | | | | | 221 | 11 |
| Produit pharmaceutique | Venlafaxine | LC-QqQ | ESI + | 277,40 | 278,3 | 260,4 | 24 |
| | | | | | 260,3 | 121 | 36 |

Annexe 4 : Intensités obtenues pour les composés modèles analysés dans différentes conditions de colonnes chromatographiques et de phases mobiles

| Molécules | LC-QqQ | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|-----------------------------|---|---|---|-----------------------------|---|---|--|---|--|---|---|--|--|---|---|
| | C ₁₈ | | | | | | | | Trinity | | | | HILIC | | | |
| | ESI (+) | | | | ESI (-) | | | | ESI (+) | ESI (-) | ESI (+) | ESI (-) | ESI (+) | ESI (-) | ESI (+) | ESI (-) |
| | MRM H ₂ O/ACN | MRM H ₂ O ²¹ /ACN | MRM H ₂ O ²² /ACN | MRM H ₂ O ² /MeOH | MRM H ₂ O/ACN | MRM H ₂ O ¹ /ACN | MRM H ₂ O ² /ACN | MRM H ₂ O ² /MeOH | MRM H ₂ O ²³ /ACN | MRM H ₂ O ³ /ACN | MRM H ₂ O ³ /MeOH | MRM H ₂ O ³ /MeOH | MRM H ₂ O ³ /ACN | MRM H ₂ O ³ /ACN | MRM H ₂ O ³ /MeOH | MRM H ₂ O ³ /MeOH |
| Acide acétylsalicylic | | | | | | DOUBLE PIC | DOUBLE PIC | DOUBLE PIC | | 1,39E+05 | | 3,86E+04 | | 4,50E+06 | | |
| Acide monochloroacétique | | | | | | | | | | 5,50E+05 | | 2,40E+05 | | 2,31E+07 | | |
| Dicamba | 2,20E+04 | 4,09E+03 | 1,79E+04 | 9,65E+04 | 3,19E+04 | 7,76E+03 | 4,12E+04 | 1,90E+04 | | | | | 6,41E+03 | 4,56E+05 | | |
| Aminotriazole | | | | | | | | | 3,38E+06 | 1,86E+05 | 2,52E+06 | 1,45E+05 | 1,34E+08 | 5,50E+06 | | |
| Cyclophosphamide | 1,20E+06 | 3,33E+04 | 1,08E+05 | 2,99E+06 | | | | | 1,20E+06 | | 1,03E+06 | | 2,91E+07 | | | |
| Erythromycin | 2,91E+05 | 1,65E+06 | 1,11E+05 | 3,33E+06 | | | | | | | | | 8,80E+06 | | 4,05E+07 | |
| Metformine | 8,29E+04 | | | | | | | | | | | | 9,28E+06 | | 2,29E+07 | |
| Paraquat | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Nonyl phénol | | | | | 1,64E+04 | 6,02E+03 | 4,04E+03 | | | | | | | | | |
| PCB 156 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Acénaphène | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Acétochlore | | | | | | | | | | | | | | | | |
| benzo(a)pyrène | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2,4'-DDE | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Heptachlor | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Oxazépam | 1,91E+07 | 8,73E+06 | 3,00E+06 | 4,23E+06 | 4,44E+05 | 2,74E+05 | 1,94E+05 | 2,06E+05 | 6,94E+05 | 1,69E+04 | 4,83E+05 | 1,63E+04 | | | | |
| Métronidazole | 1,39E+06 | 3,33E+05 | 8,14E+03 | 4,39E+06 | 7,90E+04 | | 2,15E+05 | 6,46E+05 | 1,82E+06 | 2,23E+05 | 1,50E+06 | 2,19E+05 | 9,62E+07 | 6,19E+06 | | |
| Paracétamol | 2,06E+06 | 3,51E+06 | 1,71E+04 | 2,09E+06 | 2,11E+04 | 4,29E+04 | 7,84E+03 | 1,37E+05 | 7,62E+05 | 1,35E+04 | 6,74E+05 | 9,56E+03 | 1,73E+07 | 1,11E+06 | | |
| 4-Méthylbenzylidène camphor | 2,92E+05 | 1,39E+04 | | 8,19E+06 | | | | | 2,42E+05 | | | | | | | |
| Acétamipride | 2,08E+06 | 5,41E+05 | 4,20E+05 | 5,52E+06 | 9,10E+04 | | 6,17E+03 | 1,26E+04 | 1,36E+06 | 3,91E+03 | 1,15E+06 | 3,74E+03 | 1,26E+06 | 3,91E+03 | | |
| Irganox 1076 | | 1,10E+04 | 1,20E+06 | 1,30E+08 | 9,58E+05 | 8,12E+05 | 7,08E+05 | 1,51E+07 | 1,22E+04 | | | | | | | |
| 4-n-nonylphenol diéthoxylate | 1,22E+05 | 3,59E+04 | 4,00E+04 | 3,48E+05 | | | | | | | | | 1,71E+05 | | | |
| MeFOSA | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1-Hydroxy Ibuprofène | 2,22E+06 | 2,86E+06 | 5,28E+05 | 5,16E+06 | 1,36E+06 | 3,22E+05 | 3,82E+05 | 4,00E+05 | 8,52E+04 | 8,23E+04 | 9,80E+05 | 2,63E+04 | 4,20E+04 | 1,90E+06 | | |
| Octinoxate | 4,29E+05 | 1,98E+07 | 2,40E+04 | 1,40E+08 | | | | | 1,90E+06 | | | | | | | |
| Ampicilline | 7,86E+05 | 5,76E+06 | 2,96E+05 | 1,63E+06 | 6,39E+04 | 1,08E+05 | 1,62E+04 | 3,30E+05 | 5,22E+05 | 6,66E+04 | 3,89E+05 | 3,58E+04 | 3,26E+06 | 4,23E+05 | | |
| Clothianidin | 1,27E+07 | 5,00E+06 | 2,21E+06 | 3,40E+06 | 3,06E+05 | 4,04E+05 | 4,36E+05 | 3,78E+05 | 8,58E+05 | 1,33E+05 | 6,70E+05 | 8,18E+04 | | | | |
| Clotrimazole | 6,25E+04 | 4,31E+05 | 1,75E+05 | 2,14E+07 | | | | | 7,54E+06 | | | | 9,75E+07 | | | |
| Diflufenican | 2,95E+05 | 1,63E+05 | 8,17E+04 | 7,60E+05 | 2,82E+04 | 3,82E+03 | 1,69E+04 | 3,85E+04 | 9,93E+03 | 2,83E+04 | | | | | | |

21 0,1 % HCOOH

22 10 mM acétate d'ammonium

23 20 mM acétate d'ammonium (pH ajusté à 3 avec l'acide acétique)

| Molécules | LC-QqQ | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---|-----------------------------|---|---|--|---------------------------------------|--|---|---|--|--|---|---|
| | C ₁₈ | | | | | | | | Trinity | | | | HILIC | | | |
| | ESI (+) | | | | ESI (-) | | | | ESI (+) | ESI (-) | ESI (+) | ESI (-) | ESI (+) | ESI (-) | ESI (+) | ESI (-) |
| | MRM H ₂ O/ACN | MRM 21 H ₂ O /ACN | MRM 22 H ₂ O /ACN | MRM H ₂ O ² /MeOH | MRM H ₂ O/ACN | MRM H ₂ O ¹ /ACN | MRM H ₂ O ² /ACN | MRM H ₂ O ² /MeOH | MRM 23 H ₂ O /ACN | MRM H ₂ O ³ /ACN | MRM H ₂ O ³ /MeOH | MRM H ₂ O ³ /MeOH | MRM H ₂ O ³ /ACN | MRM H ₂ O ³ /ACN | MRM H ₂ O ³ /MeOH | MRM H ₂ O ³ /MeOH |
| Diméthoate | 1,93E+06 | 8,99E+05 | 4,40E+03 | 1,07E+07 | | | | | 5,86E+06 | | | 5,82E+06 | | 5,53E+07 | | |
| Epoxiconazole | 2,80E+05 | 1,72E+06 | 1,81E+05 | 1,70E+07 | | | | | 3,35E+06 | | | 2,90E+06 | | 7,73E+07 | | |
| Fluroxypyr-meptyl | 6,92E+04 | 1,45E+05 | 1,28E+04 | 1,82E+07 | | | | | 4,20E+05 | | | | | | | |
| Flusilazole | 1,59E+06 | 5,46E+06 | 8,67E+05 | 5,13E+06 | 1,25E+05 | | 3,74E+03 | 4,32E+03 | 1,39E+06 | | | 1,22E+06 | | | | |
| Lincomycine | 3,39E+07 | 5,83E+06 | 2,73E+06 | 3,84E+06 | 6,63E+04 | 4,61E+04 | 4,95E+04 | 4,55E+04 | 8,16E+05 | 1,01E+04 | 3,70E+05 | 4,30E+03 | 8,10E+06 | 3,93E+04 | 3,30E+07 | 4,68E+05 |
| Pyrimiphos-méthyl | 1,52E+07 | 5,58E+06 | 8,12E+05 | 3,76E+07 | | | | | 9,92E+06 | | | 3,19E+06 | | | | |
| Teéracycline | 1,60E+06 | 2,31E+06 | 1,86E+05 | 2,99E+05 | | 2,02E+04 | 4,12E+03 | 5,12E+03 | 12,19E+04 | | | | | | | |
| Thiram | 3,47E+06 | 5,96E+05 | 2,32E+04 | 2,88E+06 | | | | | 1,13E+06 | | | 6,47E+05 | | | | |
| Tri-allate | 5,38E+05 | 5,18E+05 | 3,91E+04 | 2,81E+07 | | | | | 1,06E+05 | | | 1,12E+05 | | | | |
| Trichlorfon | 7,06E+04 | 3,27E+05 | 6,92E+04 | 9,93E+05 | | | | | 4,75E+05 | | | 1,76E+05 | | | | |
| Deltaméthrine | | 5,86E+03 | | 7,18E+05 | | | | | 4,66E+03 | | | | | | | |
| DBP | 6,18E+05 | 1,86E+06 | 5,78E+04 | 5,10E+07 | | | | | 1,08E+07 | | | 5,19E+06 | | | | |
| Carbamazépine | 2,02E+04 | 3,47E+05 | 1,93E+05 | 2,16E+07 | | | | | 4,62E+06 | | | 4,11E+06 | | 5,41E+07 | | |
| Diclofénac | 2,57E+06 | 2,35E+06 | 4,07E+05 | 2,03E+06 | 3,02E+06 | 1,47E+06 | 7,15E+05 | 6,67E+05 | | | | | 3,70E+06 | 3,86E+06 | | |
| Oxadiazon | 4,96E+03 | 5,63E+04 | 1,81E+05 | 1,39E+07 | | | | | 1,01E+05 | | | 5,13E+05 | | | | |
| Diisodécy l phthalate | 1,29E+05 | 1,30E+05 | 7,30E+05 | 4,76E+07 | | | | | 7,16E+05 | | | | | | | |
| Bromoxynil | | | | | 1,55E+05 | 6,65E+04 | 1,33E+05 | 3,82E+04 | | | | | | | | |
| Diéthylstilbestrol | | | | | DOUBLE PIC | DOUBLE PIC | DOUBLE PIC | DOUBLE PIC | | | 1,36E+04 | | | | | |
| Estrone | 3,72E+06 | 7,40E+06 | 1,81E+05 | 1,84E+06 | 4,37E+05 | 6,66E+03 | 1,27E+05 | 1,88E+05 | 2,71E+04 | | | 1,32E+05 | | | | |
| Fipronil | | | | | 1,74E+05 | 1,22E+05 | 2,81E+05 | 1,68E+06 | | | 1,06E+06 | | 4,34E+05 | | | |
| TBBPA | | | | | 3,76E+06 | 1,48E+06 | 2,53E+06 | 2,87E+06 | | | 4,64E+03 | | | | | |
| PFDoA | | | | | 8,14E+04 | 1,24E+04 | 2,30E+04 | 1,92E+06 | | | | | | | | |
| PFOS | | | | | 4,70E+04 | 6,61E+03 | 1,44E+04 | 4,45E+05 | | | | | | | | |
| Bisphenol A | | | | | 3,83E+05 | 9,67E+03 | 1,89E+05 | 1,44E+05 | | | | | | | | |
| HBCDD | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Glyphosate | | | | | | | | | 4,35E+05 | 1,15E+04 | | | | | | |

 Méthode choisie Composé non détecté
 Composé détecté Elution dans le volume mort

Annexe 5 :Supplementary material publication n°1

Evaluation of offline solid phase extraction approaches for the pre-concentration of a wide range of environmental pollutants in water matrices

Daniel LEONCO^{1,2}, Claudine CHATELLIER¹, Jérôme BEAUMONT¹, Patrick PARDON^{2a}, Marie-Hélène DEVIER^{2a}, François LESTREMAU¹, Hélène BUDZINSKI^{2b*}

(1) INERIS, Direction des Risques Chroniques-Parc Technologique Alata - BP 2 - 60550 Verneuil-en-Halatte

(2^a) Université de Bordeaux, EPOC, UMR 5805 LPTC, 351, Cours de la Libération, 33405 Talence, France

(2^b) CNRS, EPOC, UMR 5805 LPTC, 351, Cours de la Libération, 33405 Talence, France

*Corresponding author: Hélène Budzinski

E-mail address: helene.budzinski@u-bordeaux.fr

Supplementary material

Table S 1 : List of pollutants with family and the chemical structure

| Family | Compounds | Purity % | CAS | Log D (pH = 3) | Log D (pH = 6.7) | Chemical structure |
|----------------------------|--|---------------------------|--------------|----------------|------------------|---|
| Pharmaceuticals | 1-Hydroxy Ibuprofen | 99.6 | 53949-53-4 | 2.80 | 0.60 |  |
| Pesticides and metabolites | 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) | 98 | 94-75-7 | 2.71 | -0.89 |  |
| PCB | 2,3,3',4,4',5-H6CB (PCB 156) | 100 | 38380-08-4 | 7.32 | 7.32 |  |
| UV filter | 2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate (Octinoxate) | 99.4 | 5466-77-3 | 5.35 | 5.35 |  |
| Pesticides and metabolites | 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (2,4 MCPA) | 99.2 | 97-74-6 | 2.61 | -0.99 |  |
| Pesticides | 4-Methylbenzylidene camphor (4-MBC) | 100 | 36861-47-9 | 5.10 | 5.10 |  |
| Surfactants/Phenols | 4-n-nonylphenol diethoxylate (NP2EO) | 99 at 100 µg/L in acetone | 1173021-42-5 | 5.25 | 5.25 |  |
| Surfactants/Phenols | 4-nonylphenol | 99 | 104-40-5 | 5.92 | 5.92 |  |
| PAHs | Acenaphthene | 100 | 83-32-9 | 3.53 | 3.53 |  |
| Pesticides | Acetamiprid | 99.5 | 135410-20-7 | 0.27 | 1.11 |  |
| Pesticides | Acetochlore | 96 | 34256-82-1 | 3.43 | 3.43 |  |
| Pharmaceuticals | Acetylsalicylic acid | 99.5 | 50-78-2 | 1.47 | -2.13 |  |
| Pesticides | Aminotriazole | 99.9 | 61-82-5 | -0.30 | -0.30 |  |
| Pharmaceuticals | Ampicillin | 101.9 | 69-53-4 | -1.55 | -3.54 |  |
| Pesticides and metabolites | Asulam | 97.10 | 3337-71-1 | 0.68 | -2.82 |  |
| Pesticides and metabolites | Atrazin- 2-hydroxy | 98.98 | 2163-68-0 | -2.84 | -2.85 |  |
| Pesticides and metabolites | Bentazon | 99.9 | 25057-89-0 | 0.71 | 0.20 |  |
| PAHs | Benzo(a)pyrene | 99.5 at 10 µg/mL in ACN | 50-32-8 | 5.30 | 5.30 |  |
| Plasticizers | Bisphenol A | 99.8 | 80-05-7 | 4.24 | 4.24 |  |
| Pesticides | Bromoxynil | 98.2 | 1689-84-5 | 3 | 1.50 |  |
| Pharmaceuticals | Carbamazepine | 99.9 | 298-46-4 | 2.65 | 2.65 |  |

| Family | Compounds | Purity % | CAS | Log D (pH = 3) | Log D (pH= 6.7) | Chemical structure |
|----------------------------|---|----------------------------|-------------|----------------|-----------------|---|
| Disinfection product | Chloroacetic acid | 99.3 | 79-11-8 | 0.48 | -3.12 |  |
| Pharmaceuticals | Ciprofloxacin | 99 | 85721-33-1 | -1.06 | -0.36 |  |
| Pesticides | Clothianidin | 99.7 | 210880-92-5 | 0.33 | 0.33 |  |
| Pharmaceuticals | Clotrimazole | 99.6 | 23593-75-1 | 5.88 | 5.93 |  |
| Pharmaceuticals | Cyclophosphamide | 100 | 15307-79-6 | -0.15 | -0.15 |  |
| Pesticides | Deltamethrin | 99.7 | 52918-63-5 | 5.70 | 5.70 |  |
| Pesticides | Dicamba | 99.9 | 1918-00-9 | 2.22 | -0.66 |  |
| Pesticides | Dichlorodiphenyldichloroethylene-o,p' (DDE) | 99.7 at 99.9 µg/mL in MeOH | 3424-82-6 | 6.02 | 6.02 |  |
| Pharmaceuticals | Diclofenac | 100 | 15307-79-6 | 4.49 | 1.60 |  |
| Pharmaceuticals | Diethylstilbestrol | 99.9 | 56-53-1 | 5.27 | 5.27 |  |
| Pharmaceuticals | Diflufenican | 98 | 83164-33-4 | 5.15 | 5.15 |  |
| Plasticizers | Diisodecyl phthalate | 100 | 26761-40-0 | 9.75 | 9.75 |  |
| Pesticides | Dimethoat | 99.5 | 60-51-5 | 0.20 | 0.20 |  |
| Pesticides | Epoxiconazole | 99.2 | 106325-08-0 | 3.84 | 3.84 |  |
| Pharmaceuticals | Erythromycin | 86.4 | 114-07-8 | -0.09 | 2.37 |  |
| Pharmaceuticals | Estrone | 99.3 | 53-16-7 | 4.43 | 4.43 |  |
| Pesticides | Fipronil | 99.7 | 120068-37-3 | 4.43 | 4.43 |  |
| Pesticides | Fluroxypyr-meptyl | 100 | 81406-37-3 | 4.86 | 4.86 |  |
| Pesticides | Flusilazole | 99.8 | 85509-19-9 | 4.70 | 4.70 |  |
| Pesticides and metabolites | Foramsulfuron | 97.7 | 173159-57-4 | 0.45 | -0.35 |  |
| Pesticides | Heptachlor | 99.3 | 76-44-8 | 4.92 | 4.92 |  |
| Pharmaceuticals | Lincomycin | 100.3 | 7179-49-9 | -3.45 | -1.47 |  |

| Family | Compounds | Purity % | CAS | Log D (pH = 3) | Log D (pH = 6.7) | Chemical structure |
|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------|----------------|------------------|---|
| Pesticides and metabolites | Metazachlor ESA | 98 | 172960-62-2 | -0.45 | -0.92 |  |
| Pharmaceuticals | Metformin | 99.8 | 1115-70-4 | -5.23 | -5.23 |  |
| Pesticides and metabolites | Metolachlor ESA | 95.8 | 947601-85-6 | 0.35 | -0.35 |  |
| Pesticides and metabolites | Metolachlor OXA | 98 | 152019-73-3 | 2.32 | -0.48 |  |
| Pharmaceuticals | Metronidazole | 99.9 | 443-48-1 | 0.47 | -0.47 |  |
| Pesticides and metabolites | Nicosulfuron | 99.6 | 111991-09-4 | 0.76 | -0.15 |  |
| Pesticides and metabolites | Omethoate | 98 at 100 µg/mL in acetone | 1113-02-6 | 0.68 | -0.68 |  |
| Pesticides | Oxadiazon | 99.9 | 19666-30-9 | 5.29 | 5.29 |  |
| Pharmaceuticals | Oxazepam | 98 (?) | 604-75-1 | 3.00 | 3.00 |  |
| Pharmaceuticals | Paracetamol | 99.8 | 103-90-2 | 0.96 | 0.96 |  |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorododecanoic acid (PFDoA) | 97 | 307-55-1 | 4.56 | 4.56 |  |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) | 40 | 1763-23-1 | 3.08 | 3.08 |  |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorooctanoic acid (PFOA) | 96 | 335-67-1 | 1.81 | 1.81 |  |
| Pesticides | Pirimiphos-methyl | 99.3 | 29232-93-7 | 1.30 | 2.94 |  |
| Pharmaceuticals | Primidone | 100.0 | 125-33-7 | 0.71 | -2.89 |  |
| Pharmaceuticals | Ritalinic acid | 98.6 | 19395-41-6 | 0.49 | 0.22 |  |
| Pesticides and metabolites | Sotalol | 99.7 | 959-24-0 | 2.91 | -2.37 |  |
| Sugar substitute | Sucralose | 99.2 | 56038-13-2 | 0.46 | -0.46 |  |
| Pharmaceuticals | Sulfamethazine | 99.9 | 57-68-1 | 0.66 | 0.13 |  |
| Pesticides and metabolites | Terbutylazine | 98.8 | 5915-41-3 | 1.51 | 0.77 |  |
| Flame retardant | Tetrabromo bisphenol A (TBBPA) | 99.0 | 79-94-7 | 7.31 | 5.61 |  |

| Family | Compounds | Purity % | CAS | Log D (pH = 3) | Log D (pH= 6.7) | Chemical structure |
|-----------------|--------------|----------|-----------|----------------|-----------------|---|
| Pharmaceuticals | Tetracycline | 98 | 60-54-8 | -3.55 | -3.55 |  |
| Pesticides | Thiram | 99.8 | 137-26-8 | 2.75 | 2.75 |  |
| Pesticides | Tri-allate | 99 | 2303-17-5 | 3.80 | 3.80 |  |
| Pesticides | Trichlorfon | 97 | 52-68-6 | 1.20 | 1.20 |  |
| Pharmaceuticals | Venlafaxine | 99.99 | 9930-78-4 | -0.35 | 0.97 |  |

Table S 2: chromatographic and MS method for target compounds analyzed in LC-QqQ

| Family | Compounds | Chromatographic method | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Precursor ion (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col |
|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|---|----------|
| Disinfection product | Monochloroacetic acid | LC-QqQ HILIC | ESI - | 94.0 | 93 | SIM | SIM |
| Flame retardant | Tetrabromo bisphenol A (TBBPA) | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 539.8 | 542.84 | SIM | SIM |
| PAHs | Acenaphthene | GC-MS | E.I | 154.1 | - | 154 132 | SIM |
| PAHs | Benzo(a)pyrene | GC-MS | E.I | 252.1 | - | 252 318 | SIM |
| PCB | 2,3,3',4,4',5-H6CB (PCB 156) | GC-MS | E.I | 360.9 | - | 360 153 | SIM |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorododecanoic acid (PFDoA) | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 614.0 | 613.08 | 569.1 169 | 10 26 |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 499.9 | 499.07 | 79.88 98.89 | 46 40 |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorooctanoic acid (PFoA) | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 414.1 | 413.1 | 369.2 169 | 18 30 |
| Pesticides | 4-Methylbenzylidene camphor (4-MC) | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 254.2 | 255.38 | 171.1 212.1 | 20 |
| Pesticides | Acetamiprid | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 222.1 | 223.15 | 126.1 99 | 21 38 |

| Family | Compounds | Chromatographic method | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Precursor ion (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col |
|------------|-------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|---|----------|
| Pesticides | Aminotriazole | LC-QqQ HILIC | ESI + | 84.0 | 85.02 | SIM | SIM |
| Pesticides | Bromoxynil | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 274.9 | 276 | 79 81.25 | 30 |
| Pesticides | Clothianidin | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 249.0 | 250.11 | 169.1 132 | 13 14 |
| Pesticides | Deltamethrin | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 503.0 | 506 | 281 253 | 12 22 |
| Pesticides | Dicamba | LC-QqQ HILIC | ESI - | 220.0 | 175.1 | 145 | 5 |
| Pesticides | Dimethoat | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 229.0 | 230.12 | 199 125 | 10 22 |
| Pesticides | Epoxiconazole | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 329.1 | 330.23 | 121 123 | 21 22 |
| Pesticides | Fipronil | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 435.9 | 435.23 | 330 250 | 18 25 |
| Pesticides | Fluroxypyr-meptyl | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 366.1 | 367.28 | 255 209 | 11 26 |
| Pesticides | Flusilazole | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 315.1 | 316.29 | 247.3 219.2 | 19 30 |
| Pesticides | Oxadiazon | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 344.1 | 362.2 | 345.2 303.1 | 11 22 |
| Pesticides | Pirimiphos-methyl | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 305.1 | 306.3 | 108.07 164.05 | 32 24 |

| Family | Compounds | Chromatographic method | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Precursor ion (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col |
|----------------------------|--|-------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|---|----------|
| Pesticides | Thiram | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 240.0 | 241.07 | 88 120 | 20 |
| Pesticides | Tri-allate | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 303.0 | 306 | 86 145 | 14 26 |
| Pesticides | Trichlorfon | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 255.9 | 259.09 | 223 221 | 11 11 |
| Pesticides | Acetochlore | GC-MS | E.I | 269.1182 | - | 146 272 | SIM |
| Pesticides | Dichlorodiphenyldichloroethylene-o,p' (DDE) | GC-MS | E.I | 315.9 | - | 246 362 | SIM |
| Pesticides | Heptachlor | GC-MS | E.I | 369.8 | - | 100 250 | SIM |
| Pesticides and metabolites | Metolachlor ESA | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 329.4 | 330.3 | 298.4 202.2 | 25 34 |
| Pesticides and metabolites | Metolachlor OXA | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 279.3 | 280.3 | 248.3 73.1 | 25 34 |
| Pesticides and metabolites | Metazachlor ESA | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 323.4 | 324.2 | 69.2 253.2 | 22 21 |
| Pesticides and metabolites | Atrazin- 2-hydroxy | LC-QqQ HILIC | ESI + | 197.2 | 198.2 | 156.2 114.2 | 27 30 |
| Pesticides and metabolites | Bentazon | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 240.8 | 239.1 | 132.1 197 | 40 31 |
| Pesticides and metabolites | Terbutylazine | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 229.7 | 230.2 232.2 | 174.2 176.2 | 25 |

| Family | Compounds | Chromatographic method | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Precursor ion (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col |
|----------------------------|--|------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|---|----------|
| Pesticides and metabolites | 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4 D) | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 221.0 | 219 221 | 161 163 | 18 |
| Pesticides and metabolites | Nicosulfuron | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 410.4 | 411.2 | 182.1 213.3 | 29 33 |
| Pesticides and metabolites | Sotalol | LC-QqQ HILIC | ESI + | 272.4 | 273 | 255.3 213.2 | 21 28 |
| Pesticides and metabolites | Omethoate | LC-QqQ HILIC | ESI + | 213.2 | 214 | 182.9 124.9 | 20 30 |
| Pesticides and metabolites | Foramsulfuron | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 452.4 | 453.3 | 182.2 83 | 38 74 |
| Pesticides and metabolites | Asulam | LC-QqQ HILIC | ESI + | 230.2 | 131.2 253.2 | 156 92.1 | 16 39 |
| Pesticides and metabolites | 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (2,4 MCPA) | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 200.6 | 219 221.1 | 141.1 143 | 19 17 |
| Pharmaceuticals | 1-Hydroxy Ibuprofen | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 222.1 | 205.24 | 163.1 159.1 | 14 14 |
| Pharmaceuticals | Acetylsalicylic acid | LC-QqQ HILIC | ESI - | 180.0 | 137.11 | 93 | 13 |
| Pharmaceuticals | Ampicillin | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 349.1 | 350.21 | 106.1 161 | 20 13 |
| Pharmaceuticals | Carbamazepine | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 236.1 | 237.1 | 194.1 179 | 20 35 |
| Pharmaceuticals | Clotrimazole | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 344.1 | 277.2 | 165.15 241.2 | 22 |

| Family | Compounds | Chromatographic method | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Precursor ion (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col |
|-----------------|--------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|---|----------|
| Pharmaceuticals | Cyclophosphamide | LC-QqQ HILIC | ESI + | 260.0 | 261.16 | 140.05 106.1 | 20 22 |
| Pharmaceuticals | Diclofenac | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 295.0 | 296 | 214 215 | 34 34 |
| Pharmaceuticals | Diethylstilbestrol | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 268.1 | 267.2 | 251.1 237 | 26 |
| Pharmaceuticals | Diflufenican | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 394.1 | 395.2 | 266.03 182.99 | 22 54 |
| Pharmaceuticals | Erythromycin | LC-QqQ HILIC | ESI + | 733.5 | 734.6 | 158.1 576.2 | 37 19 |
| Pharmaceuticals | Estrone | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 270.2 | 269.32 | 145.07 159.01 | 38 34 |
| Pharmaceuticals | Lincomycin | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 406.2 | 407.34 | 126.1 359.2 | 39 18 |
| Pharmaceuticals | Metformine | LC-QqQ HILIC | ESI + | 129.1 | 130.14 | 60.03 71.04 | 14 20 |
| Pharmaceuticals | Metronidazole | LC-QqQ HILIC | ESI + | 171.1 | 172.1 | 128 82 | 14 26 |
| Pharmaceuticals | Oxazepam | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 286.1 | 287.16 | 269.1 241.1 | 16 22 |
| Pharmaceuticals | Paracetamol | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 151.1 | 152.14 | 110 93 | 18 23 |
| Pharmaceuticals | Tetracycline | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 444.2 | 445.27 | 410.2 427.2 | 18 14 |

| Family | Compounds | Chromatographic method | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Precursor ion (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col |
|---------------------|---|-------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|---|----------|
| Pharmaceuticals | Sulfamethazine | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 278.3 | 279.3 | 186.2 156.2 | 26 30 |
| Pharmaceuticals | Ritalinic acid | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 219.3 | 220.2 221.2 | 84.1 | 31 |
| Pharmaceuticals | Primidone | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 218.3 | 219.2 | 162.2 119.2 | 20 27 |
| Pharmaceuticals | Venlafaxine | LC-QqQ HILIC | ESI + | 277.4 | 278.3 260.3 | 260.4 121 | 24 36 |
| Pharmaceuticals | Ciprofloxacin | LC-QqQ HILIC | ESI + | 331.3 | 332.3 | 314.2 288.5 | 39 29 |
| Plasticizers | Bisphenol A | LC-QqQ reverse phase | ESI - | 228.1 | 227.2 | 212 133 | 20 26 |
| Plasticizers | Diisodecyl phthalate | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 446.3 | 447.46 | 141.1 289.2 | 13 11 |
| Surfactants/Phenols | 4-n-nonylphenol diethoxylate (NPE2O) | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 308.2 | 326 | 183 121 | 10 |
| Surfactants/Phenols | 4-nonylphenol | GC-MS | E.I | 220.2 | - | 107 220 | SIM |
| Sugar substitute | Sucralose | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 397.6 | 412.2 416.2 | 199.1 201.1 | 25 |
| UV filter | 2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate (octinoxate) | LC-QqQ reverse phase | ESI + | 290.2 | 291.3 | 179 161 | 8 18 |

Table S 3: Solvent used for the SPE elution in function the cartridges.

| | Cartridge | Conditioning | Elution |
|---------------------|----------------------|---|--|
| Commercial | Oasis HLB | MeOH + H ₂ O (pH=3) | 2 * 5 mL MeOH |
| | Oasis MCX | MeOH + H ₂ O (pH=3) | 5 mL MeOH + 5 mL MeOH + 5 % NH ₄ OH |
| | Oasis MAX | MeOH + H ₂ O (pH non-adjusted) | 5mL MeOH + 5 mL MeOH + 5 % HCCOH |
| | Oasis WCX | MeOH + H ₂ O (pH non-adjusted) | 5 mL MeOH + 5 mL + 5 % HCCOH |
| | Oasis WAX | MeOH + H ₂ O (pH = 3) | 5 mL MeOH + 5 mL MeOH + NH ₄ OH |
| Homemade cartridges | Stacked cartridges | MeOH + H ₂ O (pH=3) | 5mL MeOH + 5mL MeOH + 5 mL + 5 % NH ₄ OH + 5 mL + 5 % NH ₄ OH |
| | Multilayer cartridge | MeOH + H ₂ O (pH=6.7) | 4 mL MeOH/Ethyl acetate (50/50) + 2 % Nh ₄ OH + 2 mL MeOH/Ethyl acetate (50/50) + 1.7 % HCl |

Table S 4: Comparison of the performances found in the literature

| Ref | Family | Matrix | Sample pH | Amount of Oasis HLB Phase (mg) | Elution (mL) | Volume (mL) | Bibliography | | Method developed in this study | | | | |
|------------------------|--------------------|----------------|----------------------------|--------------------------------|--------------|-------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|----|
| | | | | | | | Recovery Oasis HLB (%) | Standard deviation (%) | Recovery Oasis HLB (%) | Standard deviation (%) | Recovery Multilayer (%) | Standard deviation (%) | |
| (Cruz 2015) | Atrazine-2-hydroxy | Pesticide | Wastewater treatment plant | 2 | 60 | 3 mL MeOH | 250 | 53 | 16 | 91 | 7 | 50 | 4 |
| (Cruz 2015) | Diflufenican | Pharmaceutical | Wastewater treatment plant | 2 | 60 | 3 mL MeOH | 250 | 84 | 15 | 80 | 6 | 70 | 10 |
| (Cruz 2015) | Flusilazole | Pesticide | Wastewater treatment plant | 2 | 60 | 3 mL MeOH | 250 | 99 | 17 | 90 | 7 | 97 | 4 |
| (Cruz 2015) | Metolachlor ESA | Pesticide | Wastewater treatment plant | 2 | 60 | 3 mL MeOH | 250 | 89 | 31 | 96 | 1 | 92 | 1 |
| (Cruz 2015) | Metolachlor OXA | Pesticide | Wastewater treatment plant | 2 | 60 | 3 mL MeOH | 250 | 93 | 14 | 99 | 2 | 89 | 2 |
| (Cruz 2015) | Nicosulfuron | Pesticide | Wastewater treatment plant | 2 | 60 | 3 mL MeOH | 250 | 102 | 20 | 101 | 5 | 13 | 1 |
| (Cruz 2015) | Terbutylazine | Pesticide | Wastewater treatment plant | 2 | 60 | 3 mL MeOH | 250 | 96 | 15 | 98 | 2 | 103 | 3 |
| (Fauvelle et al. 2017) | 2,4- D | Pesticide | Drinking water | 2 | 150 | 5 mL MeOH | 200 | 86 | 10 | 98 | 11 | 104 | 13 |
| (Fauvelle et al. 2017) | 2,4 MCPA | Pesticide | Drinking water | 2 | 150 | 5 mL MeOH | 200 | 98 | 9 | 96 | 7 | 97 | 13 |
| (Fauvelle et al. 2017) | Bentazon | Pesticide | Drinking water | 2 | 150 | 5 mL MeOH | 200 | 94 | 6 | 106 | 14 | 112 | 9 |
| (Fauvelle et al. 2017) | Dicamba | Pesticide | Drinking water | 2 | 150 | 5 mL MeOH | 200 | 95 | 17 | 64 | 20 | 92 | 8 |
| (Fauvelle et al. 2017) | Metolachlor ESA | Pesticide | Drinking water | 2 | 150 | 5 mL MeOH | 200 | 114 | 24 | 96 | 1 | 92 | 1 |
| (Fauvelle et al. 2017) | Metolachlor OXA | Pesticide | Drinking water | 2 | 150 | 5 mL MeOH | 200 | 105 | 26 | 99 | 2 | 89 | 2 |
| (Fauvelle et al. 2017) | Nicosulfuron | Pesticide | Drinking water | 2 | 150 | 5 mL MeOH | 200 | 98 | 15 | 101 | 5 | 13 | 1 |

| Ref | Family | Matrix | Sample pH | Amount of Oasis HLB Phase (mg) | Elution (mL) | Volume (mL) | Bibliography | | Method developed in this study | | | | |
|-----------------------|------------------|----------------|---------------|--------------------------------|--------------|----------------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|----|
| | | | | | | | Recovery Oasis HLB (%) | Standard deviation (%) | Recovery Oasis HLB (%) | Standard deviation (%) | Recovery Multilayer (%) | Standard deviation (%) | |
| (Gervais et al. 2008) | 2,4- D | Pesticide | Surface water | 2 | 200 | 3mL ACN/dichloromethane (1/1) | 200 | 96 | 2 | 98 | 11 | 104 | 13 |
| (Gervais et al. 2008) | 2,4 MCPA | Pesticide | Surface water | 2 | 200 | 3mL ACN/dichloromethane (1/1) | 200 | 95 | 5 | 96 | 7 | 97 | 13 |
| (Gervais et al. 2008) | Bentazone | Pesticide | Surface water | 2 | 200 | 3mL ACN/dichloromethane (1/1) | 200 | 107 | 6 | 106 | 14 | 112 | 9 |
| (Gervais et al. 2008) | Bromoxynil | Pesticide | Surface water | 2 | 200 | 3mL ACN/dichloromethane (1/1) | 200 | 105 | 7 | 96 | 5 | 97 | 4 |
| (Gervais et al. 2008) | Diflufenican | Pharmaceutical | Surface water | 2 | 200 | 3mL ACN/dichloromethane (1/1) | 200 | 74 | 5 | 80 | 6 | 70 | 10 |
| (Gervais et al. 2008) | Foramsulfuron | Pesticide | Surface water | 2 | 200 | 3mL ACN/dichloromethane (1/1) | 200 | 76 | 3 | 101 | 7 | 23 | 4 |
| (Gervais et al. 2008) | Nicosulfuron | Pesticide | Surface water | 2 | 200 | 3mL ACN/dichloromethane (1/1) | 200 | 86 | 4 | 101 | 5 | 13 | 1 |
| (Gervais et al. 2008) | Terbutylazine | Pesticides | Surface water | 2 | 200 | 3mL ACN/dichloromethane (1/1) | 200 | 99 | 3 | 98 | 2 | 103 | 3 |
| (Gómez et al. 2010) | Carbamazepine | Pharmaceutical | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 88 | 2 | 98 | 2 | 90 | 6 |
| (Gómez et al. 2010) | Ciprofloxacin | Pharmaceutical | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 70 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| (Gómez et al. 2010) | Clotrimazole | Pharmaceutical | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 34 | 11 | 102 | 6 | 80 | 10 |
| (Gómez et al. 2010) | Cyclophosphamide | Pharmaceutical | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 84 | 8 | 98 | 21 | 90 | 4 |
| (Gómez et al. 2010) | Diclofenac | Pharmaceutical | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 120 | 4 | 93 | 0 | 96 | 8 |
| (Gómez et al. 2010) | Erythromycin | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 41 | 9 | 24 | 4 | 92 | 10 |
| (Gómez et al. 2010) | Lincomycin | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 75 | 2 | 33 | 2 | 85 | 7 |

| Ref | Family | Matrix | Sample pH | Amount of Oasis HLB Phase (mg) | Elution (mL) | Volume (mL) | Bibliography | | Method developed in this study | | | | |
|-----------------------------|----------------|----------------------|-----------------|--------------------------------|--------------|-------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|----|
| | | | | | | | Recovery Oasis HLB (%) | Standard deviation (%) | Recovery Oasis HLB (%) | Standard deviation (%) | Recovery Multilayer (%) | Standard deviation (%) | |
| (Gómez et al. 2010) | Metronidazole | Pharmaceutical | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 52 | 12 | 40 | 13 | 78 | 2 |
| (Gómez et al. 2010) | Paracetamol | Pharmaceutical | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 42 | 12 | 44 | 5 | 86 | 4 |
| (Gómez et al. 2010) | Primidone | Pharmaceutical | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 88 | 10 | 103 | 4 | 98 | 5 |
| (Gómez et al. 2010) | Sotalol | Pesticide | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 89 | 13 | 40 | 5 | 117 | 9 |
| (Gómez et al. 2010) | sulfamethazine | Pharmaceutical | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 98 | 7 | 99 | 5 | 93 | 5 |
| (Gómez et al. 2010) | Tetracycline | Pesticide | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 25 | 11 | 78 | 21 | 0 | 0 |
| (Gómez et al. 2010) | Venlafaxine | Pharmaceutical | Wastewater | 8 | 200 | 2*4 mL MeOH | 400 | 79 | 16 | 127 | 18 | 104 | 2 |
| (Loos et al. 2010) | Estrone | Pharmaceutical | Ground water | - | 200 | 6 mL MeOH | 900 | 54 | | 99 | 6 | 92 | 10 |
| (Loos et al. 2010) | PFOA | Perfluorinated alkyl | Ground water | - | 200 | 6 mL MeOH | 900 | 82 | | 82 | 4 | 92 | 4 |
| (Racamonde et al. 2014) | Oxazepam | Pharmaceutical | Ultrapure water | 4,5 | 60 | 5 mL MeOH | 200 | 122 | 6 | 99 | 10 | 92 | 1 |
| (Racamonde et al. 2014) | Ritalinic acid | Pharmaceutical | Ultrapure water | 4,5 | 60 | 5 mL MeOH | 200 | 116 | 6 | 77 | 1 | 19 | 22 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | 2,4-D | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 87 | 14 | 98 | 11 | 104 | 13 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | 2.4 MCPA | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 122 | 7.6 | 96 | 7 | 97 | 13 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Acetamiprid | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 83 | 6.1 | 98 | 4 | 89 | 5 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Ampicillin | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 62 | 17 | 58 | 24 | 33 | 15 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Asulame | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 72 | 7 | 128 | 15 | 59 | 9 |

| Ref | Family | Matrix | Sample pH | Amount of Oasis HLB Phase (mg) | Elution (mL) | Volume (mL) | Bibliography | | Method developed in this study | | | | |
|-----------------------------|-------------------|----------------|-------------|--------------------------------|--------------|-------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|----|
| | | | | | | | Recovery Oasis HLB (%) | Standard deviation (%) | Recovery Oasis HLB (%) | Standard deviation (%) | Recovery Multilayer (%) | Standard deviation (%) | |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Bentazon | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 102 | 11 | 106 | 14 | 112 | 9 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Carbamazepine | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 64 | 3 | 98 | 2 | 90 | 6 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Ciprofloxacin | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 6 | 36 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Clothianidin | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 75 | 7 | 95 | 5 | 100 | 3 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Deltamethrin | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 8 | 25 | 82 | 17 | 44 | 1 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Diclofenac | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 91 | 4 | 93 | 0 | 96 | 8 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Diflufenican | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 52 | 17 | 80 | 6 | 70 | 10 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Dimethoate | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 84 | 6 | 97 | 4 | 79 | 4 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Erythromycin | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 41 | 9 | 24 | 4 | 92 | 10 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Fluroxypyr-meptyl | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 97 | 5 | 53 | 3 | 51 | 1 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Lincomycin | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 67 | 7 | 33 | 2 | 85 | 7 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Metformin | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 3 | 12 | 0 | 0 | 53 | 8 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Omethoate | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 18 | 21 | 33 | 4 | 82 | 1 |

| Ref | Family | Matrix | Sample pH | Amount of Oasis HLB Phase (mg) | Elution (mL) | Volume (mL) | Bibliography | | Method developed in this study | | | | |
|-----------------------------|---------------|----------------------|-------------|--------------------------------|--------------|-------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|----|
| | | | | | | | Recovery Oasis HLB (%) | Standard deviation (%) | Recovery Oasis HLB (%) | Standard deviation (%) | Recovery Multilayer (%) | Standard deviation (%) | |
| 2014) | | | | | | | | | | | | | |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Oxadiazon | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 35 | 7 | 84 | 3 | 79 | 21 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Paracetamol | Pharmaceutical | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 70 | 5 | 44 | 5 | 86 | 4 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | PFOS | Perfluorinated alkyl | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 40 | 10 | 57 | 7 | 61 | 8 |
| (Robles-Molina et al. 2014) | Terbutylazine | Pesticide | Waste water | 7 | 200 | 2*4 mL MeOH | 200 | 70 | 5 | 98 | 2 | 103 | 3 |

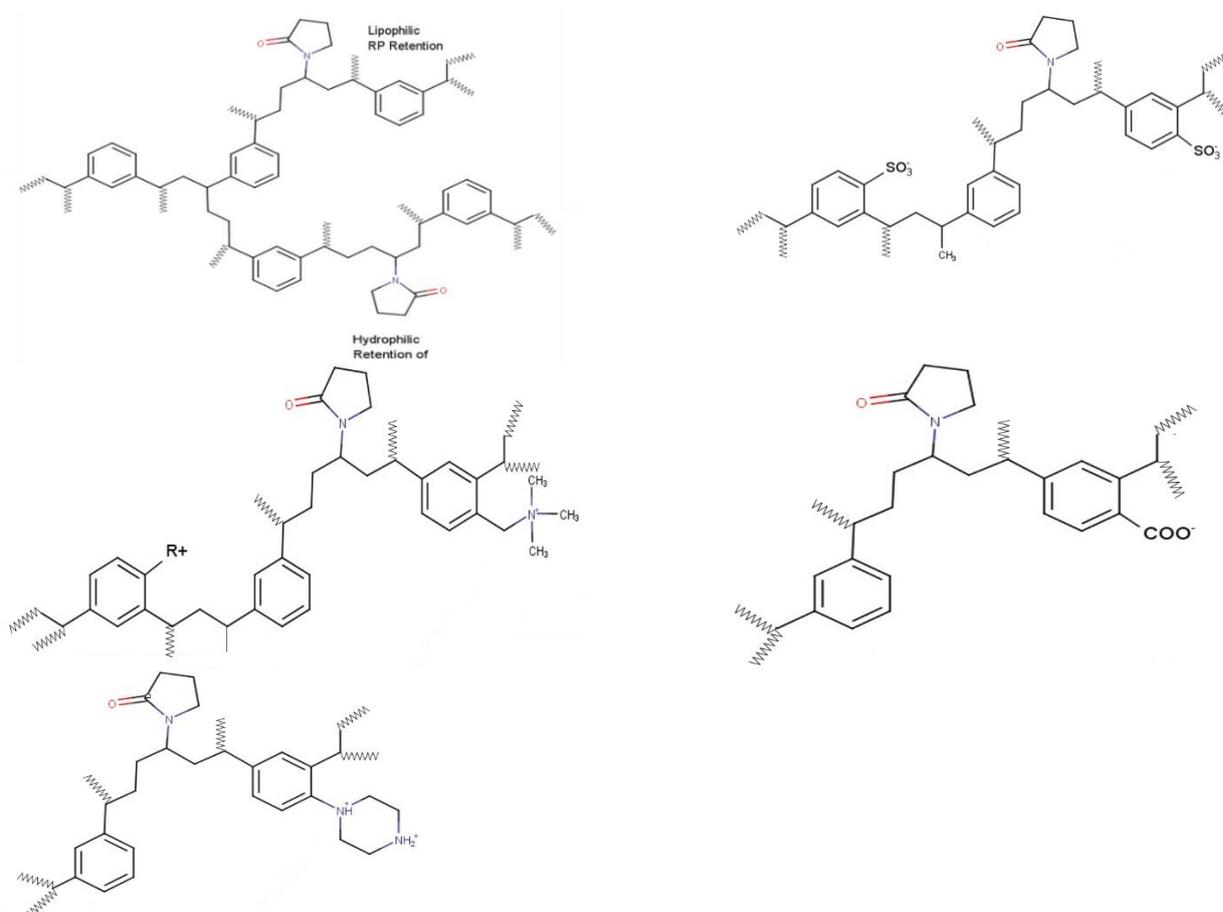


Fig S 1 : Presentation of the structures of the different OASIS SPE cartridges: HLB (up left), MCX (up right), MAX (middle left), WCX (middle right) and WAX (bottom left) (Waters)

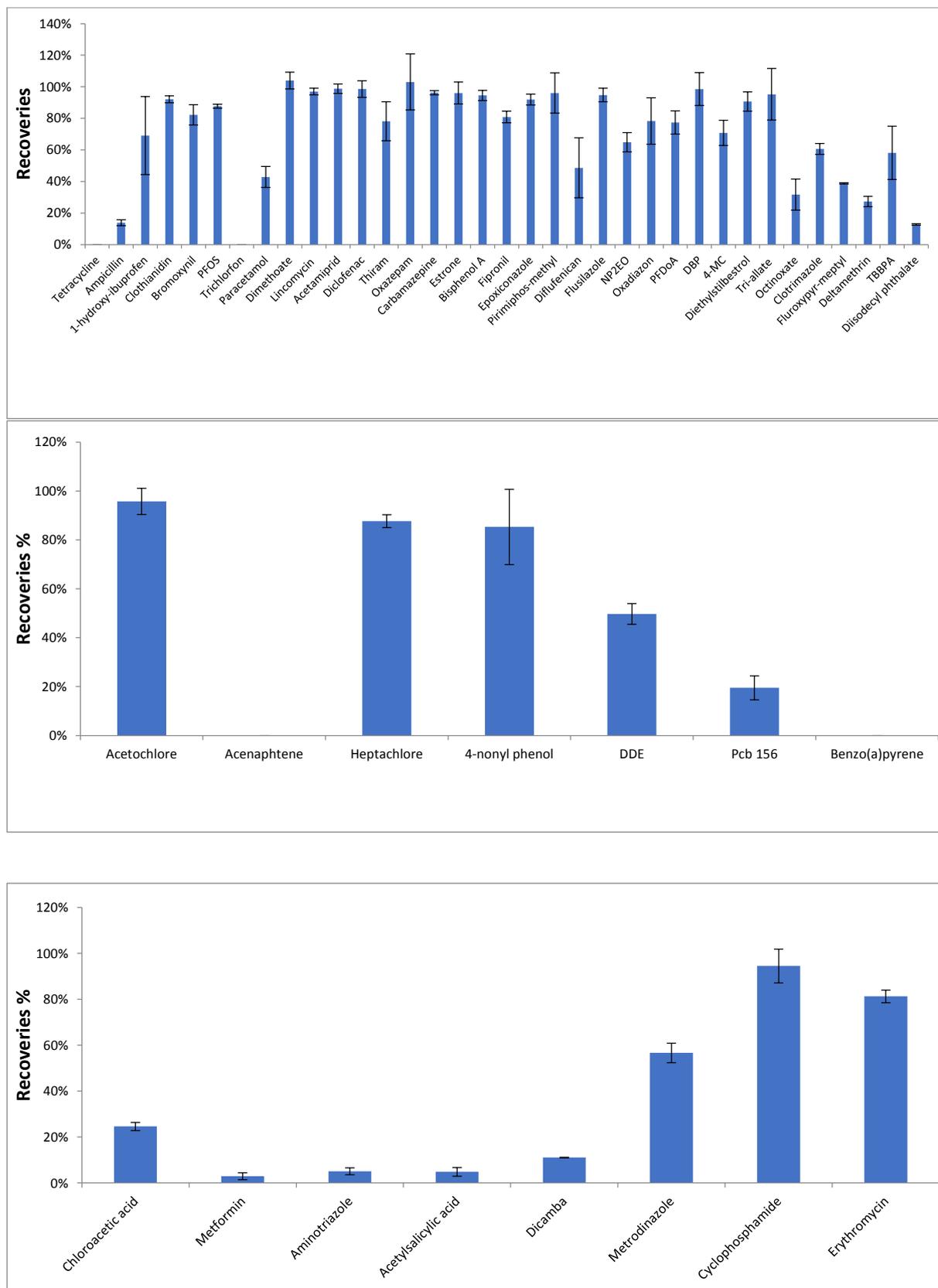


Fig S 2: Recoveries for the extraction of the selected compounds with the cartridges Oasis HLB (pH=7) for the molecules analyzed in LC-C18 (up), in GC-MS (middle) and in LC-HILIC (bottom),

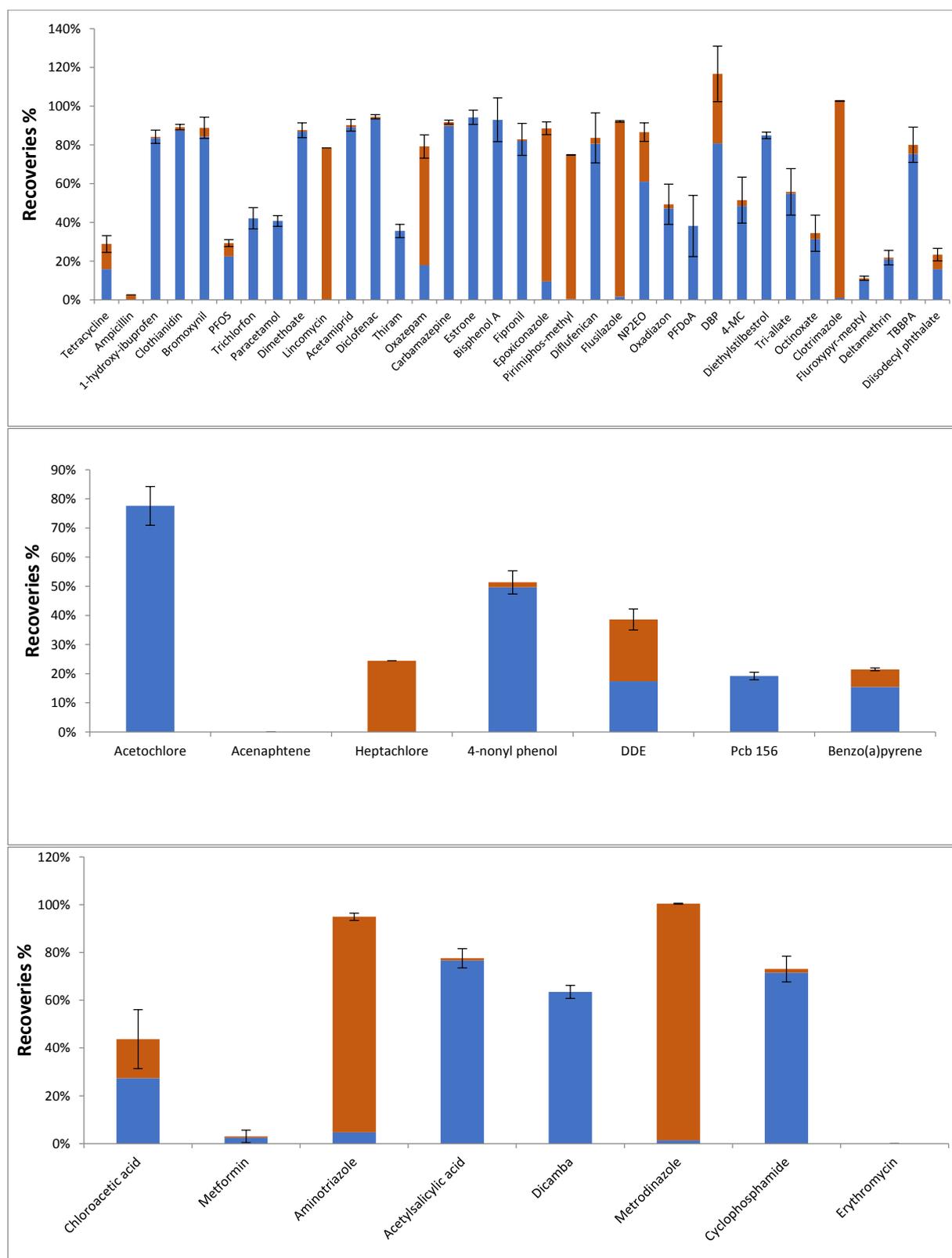


Fig S 3 : Recoveries for the extraction of the selected compounds with the cartridges Oasis MCX (pH=3) for the molecules analyzed in LC-C18 (up), in GC-MS (middle) and in LC-HILIC (bottom), The first elution with 5 mL MeOH is in blue and the second elution with 5 mL MeOH + 5 % NH₄OH is in orange

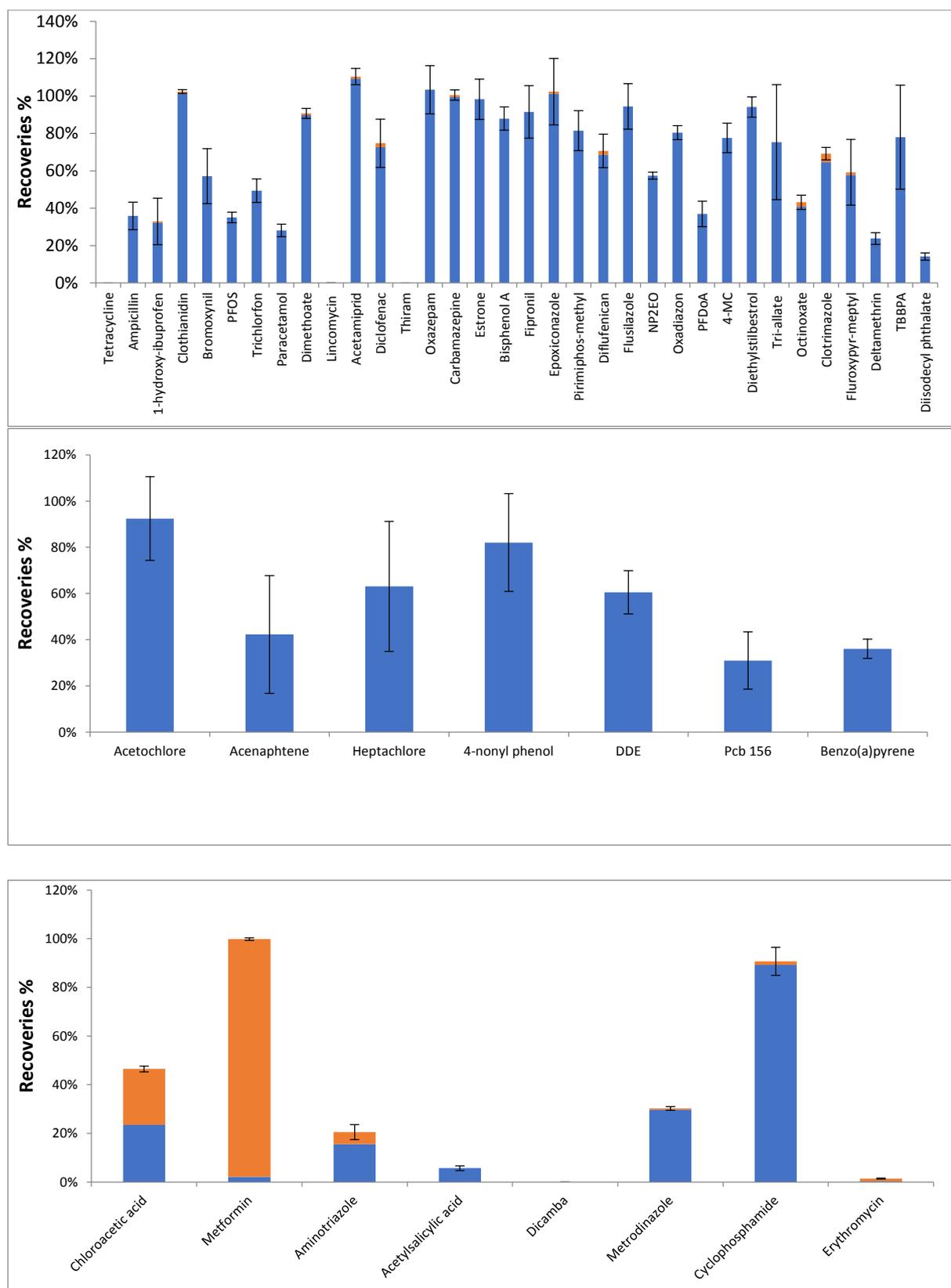


Fig S 4: Recoveries for the extraction of the selected compounds with the cartridges Oasis WCX (pH=7) for the molecules analyzed in LC-C18 (up), in GC-MS (middle) and in LC-HILIC (bottom), The first elution with 5 mL MeOH is in blue and the second elution with 5 mL MeOH + 5 % HCOOH is in orange

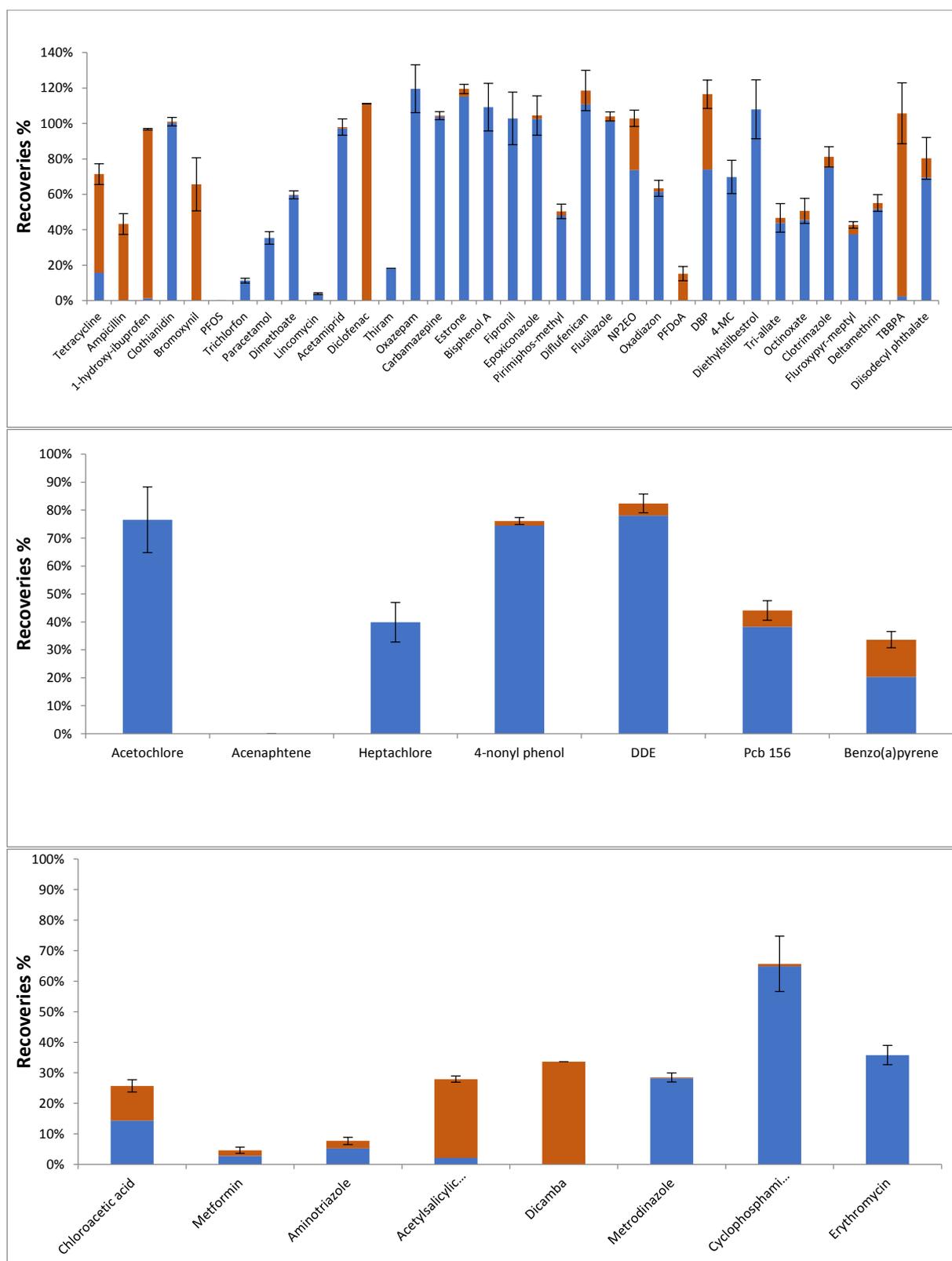


Fig 5 5: Recoveries for the extraction of the selected compounds with the cartridges Oasis MAX (pH=7) for the molecules analyzed in LC-C18 (up), in GC-MS (middle) and in LC-HILIC (bottom), The first elution with 5 mL MeOH is in blue and the second elution with 5 mL MeOH + 5 % HCOOH is in orange

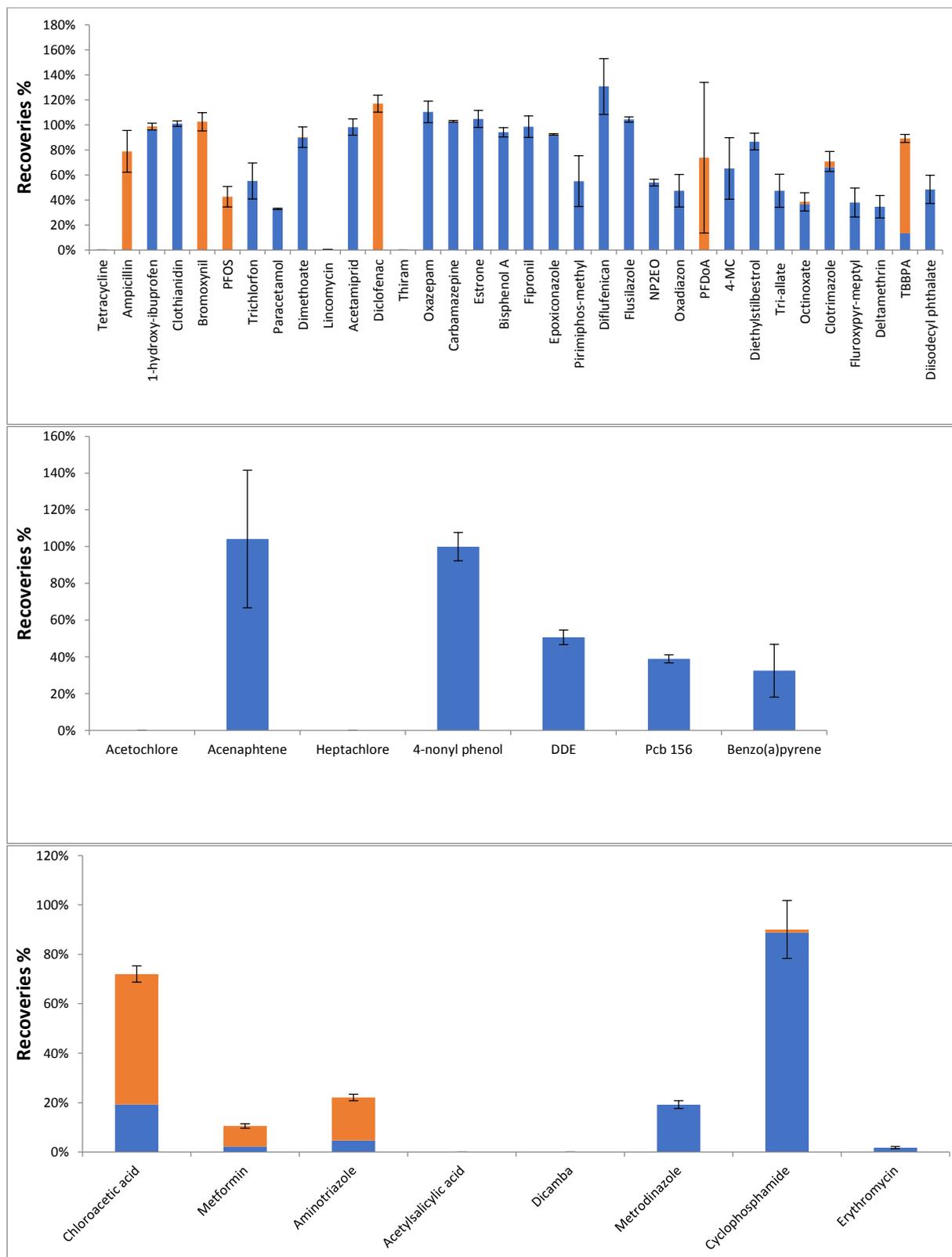


Fig S 6: Recoveries for the extraction of the selected compounds with the cartridges Oasis WAX (pH=3) for the molecules analyzed in LC-C18 (up), in GC-MS (middle) and in LC-HILIC (bottom), The first elution with 5 mL MeOH is in blue and the second elution with 5 mL MeOH + 5 % NH₄OH is in orange,

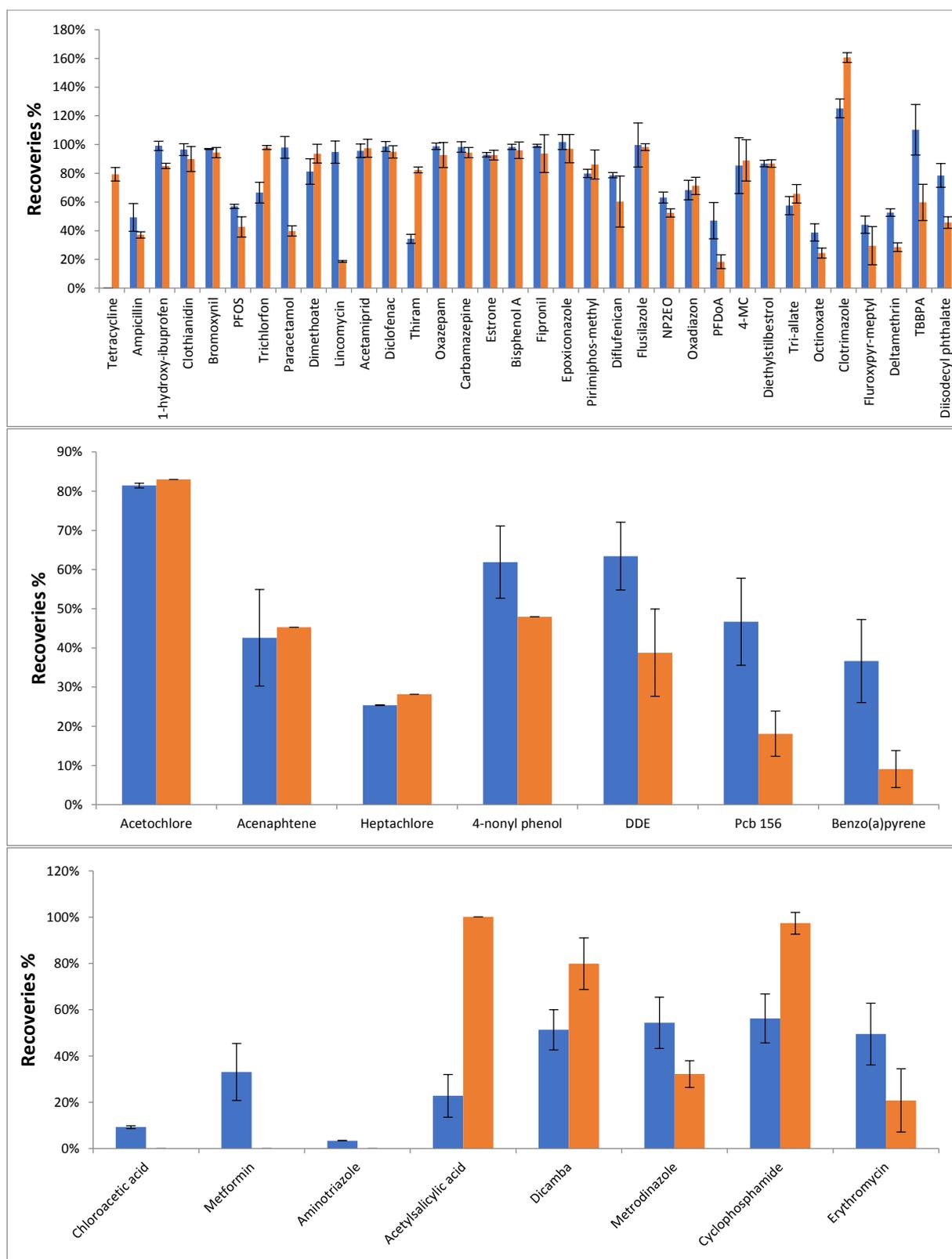


Fig S 7 : Recoveries for the extraction of the selected compounds for the molecules analyzed in LC-C18 (up), in GC-MS (middle) and in LC-HILIC (bottom), Contaminants were spiked in source water (Evian) with the multilayer (blue) and HLB (orange) cartridges

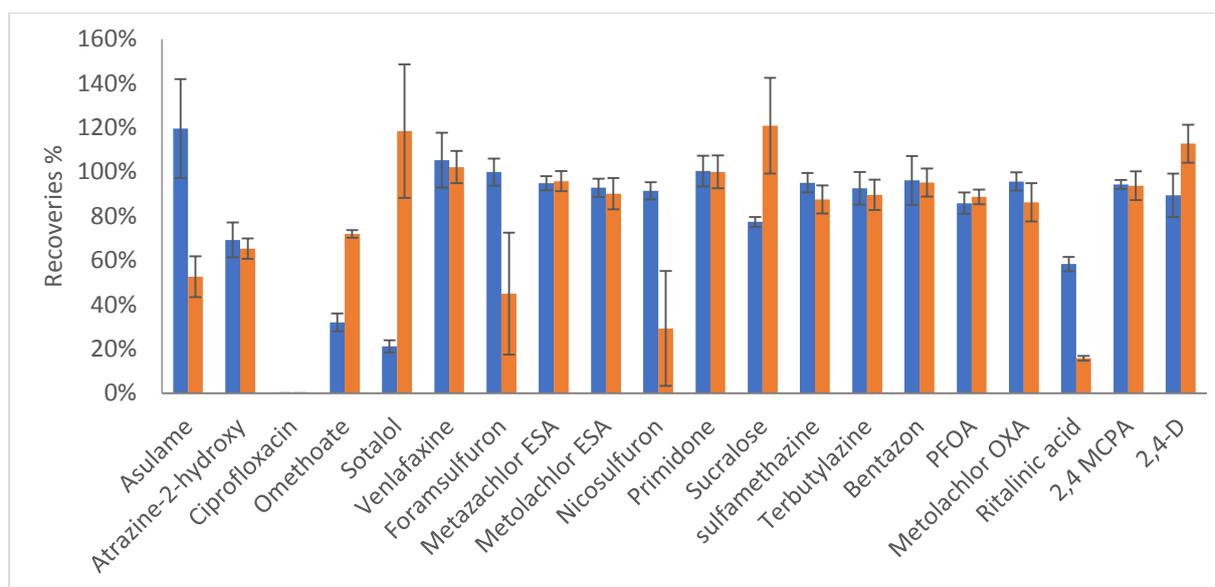


Fig S 8: recoveries for the extraction of the selected polar compounds with the cartridges Oasis HLB (blue) and multilayer (orange) in the source water (Evian),

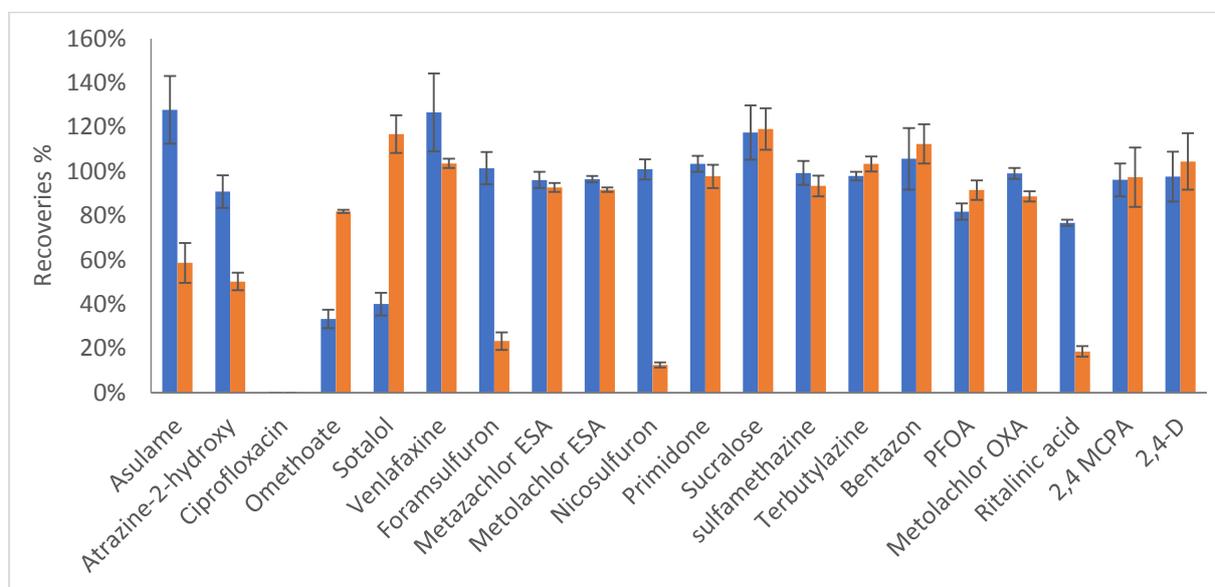


Fig S 9: Recoveries for the extraction of the selected polar compounds with the cartridges Oasis HLB (blue) and multilayer (orange) in the river water Oise)

Annexe 6 : Transitions MRM obtenues pour l'analyse des composés modèles sur le module SPE (Agilent 1200)-HPLC 1290 couplée à un spectromètre MS/MS triple quadrupôle 6460 (Agilent technologies)

| Famille | Composé | Mode d'ionisation | Masse molaire (m/z) | Ion parents (m/z) | Transition de quantification (m/z) Transition de qualification (m/z) | E col | Fragmentor |
|------------------------|---|-------------------|---------------------|-------------------|---|----------|------------|
| Produit pharmaceutique | 1-Hydroxy Ibuprofène | ESI + | 222,13 | 205,2 | 163,1 159,1 | 14 14 | 80 |
| Filtre UV | 2-Ethylhexyl 4-méthoxycinnamate (Octinoxate) | ESI + | 290,19 | 291,3 | 179 161 | 8 18 | 135 |
| Pesticides | 4-Methylbenzylidene camphor (4-MC) | ESI + | 254,17 | 255,4 | 171,1 212,1 | 20 | 135 |
| Surfactant | 4-n-nonylphenol diéthoxylate (NP2EO) | ESI + | 308,24 | 326 | 183 121 | 10 | 135 |
| Pesticides | Acétamipride | ESI + | 222,07 | 223,2 | 126,1 99 | 21 38 | 135 |
| Pesticides | Acide (4-chloro-2-méthylphenoxy)acétique (2,4 MCPA) | ESI - | 200,62 | 199 201 | 141 143 | 12 8 | 87 77 |
| Pesticide | Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) | ESI - | 221,04 | 219 221 | 161 163 | 18 | 77 82 |
| Produit pharmaceutique | Acide acétylsalicylique | ESI - | 180,04 | 179,1 | 93 136,9 | 18 6 | 56 |
| Alkyles perfluorés | Acide perfluorododécanoïque (PFDoA) | ESI - | 613,96 | 613,1 | 569,1 169 | 10 26 | 78 |
| Alkyles perfluorés | Acide perfluorooctanesulfonique (PFOS) | ESI - | 499,93 | 499,1 | 79,9 98,9 | 46 40 | 78 |
| Alkyles perfluorés | Acide perfluorooctanoïque (PFoA) | ESI - | 414,07 | 413,1 | 169 369,2 | 30 18 | 82 |
| Produit pharmaceutique | Acide ritalinique | ESI + | 219,28 | 220,1 | 84,1 56,1 | 16 52 | 119 |
| Pesticides | Aminotriazole | ESI + | 84,04 | 85,0 | SIM | SIM | 69 |
| Produit pharmaceutique | Ampicilline | ESI + | 349,11 | 350,2 | 106,1 161 | 20 13 | 110 |
| Pesticides | Asulame | ESI + | 230,24 | 231 | 92 65 | 20 44 | 50 |
| Pesticides | Atrazin- 2-hydroxy | ESI + | 197,24 | 198,1 | 156 86 | 12 20 | 132 |
| Pesticides | Bentazon | ESI - | 240,80 | 239,1 | 132,1 197 | 40 31 | 117 |
| Plastifiant | Bisphénol A | ESI - | 228,12 | 227,2 | 212 133 | 20 26 | 78 |
| Pesticides | Bromoxynil | ESI - | 274,86 | 276 | 79 81,3 | 30 | 78 |
| Produit pharmaceutique | Carbamazépine | ESI + | 236,09 | 237,1 | 194,1 179 | 20 35 | 120 |

| Famille | Composé | Mode d'ionisation | Masse molaire (m/z) | Ion parents (m/z) | Transition de quantification (m/z) Transition de qualification (m/z) | E col | Fragmentor |
|------------------------|---------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|---|----------|------------|
| Pesticides | Clothianidin | ESI + | 249,01 | 250,1 | 169,1 132 | 13 14 | 135 |
| Produit pharmaceutique | Clotrimazole | ESI + | 344,11 | 277,2 | 165,15 241,15 | 22 | 135 |
| Produit pharmaceutique | Cyclophosphamide | ESI + | 260,02 | 261,2 | 140,1 106,1 | 20 22 | 140 |
| Produit pharmaceutique | Diclofénac | ESI + | 295,02 | 296 | 214 215 | 34 | 92 |
| Produit pharmaceutique | Diethylstilbestrol | ESI - | 268,15 | 267,2 | 251,1 237 | 26 | 78 |
| Produit pharmaceutique | Diflufénican | ESI + | 394,07 | 395,2 | 266 183 | 22 54 | 156 |
| Plastifiant | Diisodécyl phthalate | ESI + | 446,34 | 447,5 | 141,1 289,2 | 13 11 | 135 |
| Pesticides | Dimethoat | ESI + | 229,00 | 230 | 199 125 | 10 22 | 72 |
| Plastifiant | Di-n-butylphthalate (DBP) | ESI + | 278,15 | 279,3 | 149 205,1 | 19 10 | 135 |
| Pesticides | Epoxiconazole | ESI + | 329,07 | 330,2 | 121 123 | 21 22 | 135 |
| Produit pharmaceutique | Erythromycine | ESI + | 733,46 | 734,6 | 158,1 576,2 | 37 19 | 150 |
| Produit pharmaceutique | Estrone | ESI - | 270,16 | 269,3 | 145,1 159 | 38 34 | 78 |
| Pesticides | Fipronil | ESI - | 435,94 | 435,2 | 330 250 | 18 25 | 78 |
| Pesticides | Fluroxypyr-meptyl | ESI + | 366,09 | 367,3 | 255 209 | 11 26 | 135 |
| Pesticides | Flusilazole | ESI + | 315,10 | 316,3 | 247,3 219,2 | 19 30 | 124 |
| Pesticides | Foramsulfuron | ESI + | 452,44 | 453,3 | 182,2 83 | 38 74 | 94 |
| Plastifiant | Irganox 1076 | ESI + | 530,70 | 548,5 | 475,4 419,3 | 12 | 80 |
| Produit pharmaceutique | Lincomycin | ESI + | 406,21 | 407,3 | 126,1 359,2 | 39 18 | 110 |
| Produit pharmaceutique | Meéronidazole | ESI + | 171,06 | 172,1 | 128 82 | 14 26 | 80 |
| Pesticides | Métazachlor ESA | ESI + | 323,37 | 324,2 | 69,2 134,1 | 4 24 | 94 |
| Produit pharmaceutique | Metformine | ESI + | 129,10 | 130,1 | 60 71 | 14 20 | 92 |

| Famille | Composé | Mode d'ionisation | Masse molaire (m/z) | Ion parents (m/z) | Transition de quantification (m/z) Transition de qualification (m/z) | E col | Fragmentor |
|------------------------|-------------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|---|----------|------------|
| Pesticides | Métolachlor ESA | ESI + | 329,41 | 330,3 | 298,4 202,2 | 28 47 | 124 |
| Pesticides | Métolachlor OXA | ESI + | 279,33 | 280,2 | 248,1 73,1 | 8 34 | 92 |
| Pesticides | Nicosulfuron | ESI + | 410,41 | 411,2 | 182,2 213,3 | 29 33 | 151 |
| Pesticides | Ométhoate | ESI + | 213,19 | 214 | 124,9 182,9 | 20 4 | 82 |
| Pesticides | Oxadiazon | ESI + | 344,07 | 362,2 | 345,2 303,1 | 11 22 | 135 |
| Produit pharmaceutique | Oxazéпам | ESI + | 286,05 | 287,2 | 269,1 241,1 | 16 22 | 104 |
| Produit pharmaceutique | Paracétamol | ESI + | 151,06 | 152,0 | 110 93 | 18 23 | 110 |
| Pesticides | Pirimiphos-methyl | ESI + | 305,10 | 306,3 | 108,1 164 | 32 24 | 135 |
| Produit pharmaceutique | Primidone | ESI + | 218,25 | 219,1 | 91 161,9 | 28 4 | 77 |
| Pesticides | Sotalol | ESI + | 272,36 | 255 | 133 212,9 | 20 12 | 151 |
| Sucre | Sucralose | ESI + | 397,63 | 419 | 239 221 | 15 | 110 |
| Produit pharmaceutique | Sulfaméthazine | ESI + | 278,33 | 279,3 | 186,2 156,2 | 26 30 | 130 |
| Retardateur de flamme | Térabromo bisphénol A (TBBPA) | ESI - | 539,76 | 538,8 | 78,9 415,7 | 56 44 | 120 |
| Pesticides | Terbuthylazine | ESI + | 229,71 | 230,2 232,2 | 174,2 176,2 | 25 | 103 |
| Pesticides | Tri-allate | ESI + | 303,00 | 306 | 86 145 | 14 26 | 135 |
| Pesticides | Trichlorfon | ESI + | 255,92 | 259,1 | 223 221 | 11 | 135 |
| Produit pharmaceutique | Venlafaxine | ESI + | 277,40 | 278,2 | 58,1 260,1 | 16 4 | 97 |

Annexe 7 : Supplémentary material de la publication n°2

Development of an on-line Solid Phase Extraction / liquid chromatography - mass spectrometry method for the detection of a wide range of environmental pollutants in surface waters

Daniel LEONCO^{1,2}. Patrick PARDON^{2a}. Marie-Hélène DEVIER^{2a}. François LESTREMAU¹. Hélène BUDZINSKI^{2b*}

(1) INERIS. Direction des Risques Chroniques-Parc Technologique Alata - BP 2 - 60550 Verneuil-en-Halatte

(2^a) Université de Bordeaux. EPOC. UMR 5805 LPTC. 351. Cours de la Libération. 33405 Talence. France

(2^b) CNRS. EPOC. UMR 5805 LPTC. 351. Cours de la Libération. 33405 Talence. France

*Corresponding author: Hélène Budzinski

E-mail address: helene.budzinski@u-bordeaux.fr

Supplementary material

Table S 1 : List of pollutants with family and the chemical structure

| Family | Compounds | Purity % | CAS | Log D (pH = 3) | Log D (pH= 6.7) | Chemical structure |
|----------------------------|--|---------------------------|--------------|----------------|-----------------|---|
| Pharmaceuticals | 1-Hydroxy Ibuprofen | 99.6 | 53949-53-4 | 2.80 | 0.60 |  |
| Pesticides and metabolites | 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) | 98 | 94-75-7 | 2.71 | -0.89 |  |
| UV filter | 2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate (Octinoxate) | 99.4 | 5466-77-3 | 5.35 | 5.35 |  |
| Pesticides and metabolites | 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (2,4 MCPA) | 99.2 | 97-74-6 | 2.61 | -0.99 |  |
| Pesticides | 4-Methylbenzylidene camphor (4-MBC) | 100 | 36861-47-9 | 5.10 | 5.10 |  |
| Surfactants/Phenols | 4-n-nonylphenol diethoxylate (NP2EO) | 99 at 100 µg/L in acetone | 1173021-42-5 | 5.25 | 5.25 |  |
| Pesticides | Acetamiprid | 99.5 | 135410-20-7 | 0.27 | 1.11 |  |
| Pharmaceuticals | Acetylsalicylic acid | 99.5 | 50-78-2 | 1.47 | -2.13 |  |
| Pesticides | Aminotriazole | 99.9 | 61-82-5 | -0.30 | -0.30 |  |
| Pharmaceuticals | Ampicillin | 100 | 69-53-4 | -1.55 | -3.54 |  |
| Pesticides and metabolites | Asulam | 97.10 | 3337-71-1 | 0.68 | -2.82 |  |
| Pesticides and metabolites | Atrazin- 2-hydroxy | 98.98 | 2163-68-0 | -2.84 | -2.85 |  |
| Pesticides and metabolites | Bentazon | 99.9 | 25057-89-0 | 0.71 | 0.20 |  |
| Plasticizers | Bisphenol A | 99.8 | 80-05-7 | 4.24 | 4.24 |  |
| Pesticides | Bromoxynil | 98.2 | 1689-84-5 | 3 | 1.50 |  |
| Pharmaceuticals | Carbamazepine | 99.9 | 298-46-4 | 2.65 | 2.65 |  |
| Disinfection product | Chloroacetic acid | 99.3 | 79-11-8 | 0.48 | -3.12 |  |
| Pesticides | Clothianidin | 99.7 | 210880-92-5 | 0.33 | 0.33 |  |
| Pharmaceuticals | Clotrimazole | 99.6 | 23593-75-1 | 5.88 | 5.93 |  |
| Pharmaceuticals | Cyclophosphamide | 100 | 15307-79-6 | -0.15 | -0.15 |  |
| Pharmaceuticals | Diclofenac | 100 | 15307-79-6 | 4.49 | 1.60 | |

| Family | Compounds | Purity % | CAS | Log D (pH = 3) | Log D (pH= 6.7) | Chemical structure |
|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------|----------------|-----------------|---|
| Pharmaceuticals | Diethylstilbestrol | 99.9 | 56-53-1 | 5.27 | 5.27 |  |
| Pharmaceuticals | Diflufenican | 98 | 83164-33-4 | 5.15 | 5.15 |  |
| Plasticizers | Diisodecyl phthalate | 100 | 26761-40-0 | 9.75 | 9.75 |  |
| Pesticides | Dimethoat | 99.5 | 60-51-5 | 0.20 | 0.20 |  |
| Pesticides | Epoxiconazole | 99.2 | 106325-08-0 | 3.84 | 3.84 |  |
| Plasticizers | Di-n-butylphthalate (DBP) | 99 | 84-74-2 | 4.60 | 4.60 |  |
| Pharmaceuticals | Erythromycin | 86.4 | 114-07-8 | -0.09 | 2.37 |  |
| Pharmaceuticals | Estrone | 99.3 | 53-16-7 | 4.43 | 4.43 |  |
| Pesticides | Fipronil | 99.7 | 120068-37-3 | 4.43 | 4.43 |  |
| Pesticides | Fluroxypyr-meptyl | 100 | 81406-37-3 | 4.86 | 4.86 |  |
| Pesticides | Flusilazole | 99.8 | 85509-19-9 | 4.70 | 4.70 |  |
| Pesticides and metabolites | Foramsulfuron | 97.7 | 173159-57-4 | 0.45 | -0.35 |  |
| Plasticizers | Irganox 1076 | 99 | 109265-64-7 | 12.5 | 12.5 |  |
| Pharmaceuticals | Lincomycin | 100 | 7179-49-9 | -3.45 | -1.47 |  |
| Pesticides and metabolites | Metazachlor ESA | 98 | 172960-62-2 | -0.45 | -0.92 |  |
| Pharmaceuticals | Metformin | 99.8 | 1115-70-4 | -5.23 | -5.23 |  |
| Pesticides and metabolites | Metolachlor ESA | 95.8 | 947601-85-6 | -0.35 | -0.35 |  |
| Pesticides and metabolites | Metolachlor OXA | 98 | 152019-73-3 | 2.32 | -0.48 |  |
| Pharmaceuticals | Metronidazole | 99.9 | 443-48-1 | -0.47 | -0.47 |  |
| Pesticides and metabolites | Nicosulfuron | 99.6 | 111991-09-4 | 0.76 | -0.15 |  |
| Pesticides and metabolites | Omethoate | 98 at 100 µg/mL in acetone | 1113-02-6 | -0.68 | -0.68 |  |
| Pesticides | Oxadiazon | 99.9 | 19666-30-9 | 5.29 | 5.29 |  |
| Pharmaceuticals | Oxazepam | 98 | 604-75-1 | 3.00 | 3.00 |  |

| Family | Compounds | Purity % | CAS | Log D (pH = 3) | Log D (pH= 6.7) | Chemical structure |
|----------------------------|-------------------------------------|----------|------------|----------------|-----------------|---|
| Pharmaceuticals | Paracetamol | 99.8 | 103-90-2 | 0.96 | 0.96 |  |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorododecanoic acid (PFDoA) | 97 | 307-55-1 | 4.56 | 4.56 |  |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) | 40 | 1763-23-1 | 3.08 | 3.08 |  |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorooctanoic acid (PFOA) | 96 | 335-67-1 | 1.81 | 1.81 |  |
| Pesticides | Pirimiphos-methyl | 99.3 | 29232-93-7 | 1.30 | 2.94 |  |
| Pharmaceuticals | Primidone | 100.0 | 125-33-7 | 0.71 | -2.89 |  |
| Pharmaceuticals | Ritalinic acid | 98.6 | 19395-41-6 | -0.49 | 0.22 |  |
| Pesticides and metabolites | Sotalol | 99.7 | 959-24-0 | -2.91 | -2.37 |  |
| Sugar substitute | Sucralose | 99.2 | 56038-13-2 | -0.46 | -0.46 |  |
| Pharmaceuticals | Sulfamethazine | 99.9 | 57-68-1 | 0.66 | 0.13 |  |
| Pesticides and metabolites | Terbutylazine | 98.8 | 5915-41-3 | -1.51 | 0.77 |  |
| Flame retardant | Tetrabromo bisphenol A (TBBPA) | 99.0 | 79-94-7 | 7.31 | 5.61 |  |
| Pesticides | Tri-allate | 99 | 2303-17-5 | 3.80 | 3.80 |  |
| Pesticides | Trichlorfon | 97 | 52-68-6 | 1.20 | 1.20 |  |
| Pharmaceuticals | Venlafaxine | 99.99 | 9930-78-4 | -0.35 | 0.97 |  |

Table S2 : chromatographic and MS method for target compounds analyzed in LC-QqQ

| Family | Compounds | Log D (pH=3) | Log D (pH=6.7) | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Ion parents (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col | Fragmentor |
|---------------------|--|--------------|----------------|-----------------|----------------------|-------------------|---|----------|------------|
| Pharmaceuticals | 1-Hydroxy Ibuprofen | 2.8 | 0.6 | ESI + | 222.13 | 205.20 | 163.10 159.10 | 14 14 | 80 |
| Pesticides | 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4 D) | 2.71 | -0.89 | ESI - | 221.04 | 219.00 221.00 | 161.00 163.00 | 18 | 77 82 |
| UV filter | 2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate (Octinoxate) | 5.35 | 5.35 | ESI + | 290.19 | 291.30 | 179.00 161.00 | 8 18 | 135 |
| Pesticides | 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (2,4 MCPA) | 2.61 | -0.99 | ESI - | 200.62 | 199.00 201.00 | 141.00 143.00 | 12 8 | 87 77 |
| Pesticides | 4-Methylbenzylidene camphor (4-MC) | 5.1 | 5.1 | ESI + | 254.17 | 255.40 | 171.10 212.10 | 20 | 135 |
| Surfactants/Phenols | 4-n-nonylphenol diethoxylate (NP2EO) | 5.25 | 5.25 | ESI + | 308.24 | 326.00 | 183.00 121.00 | 10 | 135 |
| Pesticides | Acetamiprid | 0.27 | 1.11 | ESI + | 222.07 | 223.20 | 126.10 99.00 | 21 38 | 135 |
| Pharmaceuticals | Acetylsalicylic acid | 1.47 | -2.13 | ESI - | 180.04 | 179.10 | 93.00 136.90 | 18 6 | 56 |
| Pesticides | Aminotriazole | -0.3 | -0.3 | ESI + | 84.04 | 85.00 | SIM | SIM | 69 |
| Pharmaceuticals | Ampicillin | -1.55 | -3.54 | ESI + | 349.11 | 350.20 | 106.10 161.00 | 20 13 | 110 |
| Pesticides | Asulame | 0.68 | -2.82 | ESI + | 230.24 | 231.0 | 92.00 65.00 | 20 44 | 50 |
| Pesticides | Atrazin- 2-hydroxy | -2.84 | -2.85 | ESI + | 197.24 | 198.10 | 156.00 86.00 | 12 20 | 132 |

| Family | Compounds | Log D (pH=3) | Log D (pH=6.7) | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Ion parents (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col | Fragmentor |
|-----------------|---------------------------|--------------|----------------|-----------------|----------------------|-------------------|--|----------|------------|
| Pesticides | Bentazon | 0.71 | 0.2 | ESI - | 240.8 | 239.10 | 132.10 197.00 | 40 31 | 117 |
| Plasticizers | Bisphenol A | 4.24 | 4.24 | ESI - | 228.12 | 227.20 | 212.00 133.00 | 20 26 | 78 |
| Pesticides | Bromoxynil | 3.00 | 1.5 | ESI - | 274.86 | 276.00 | 79.00 81.30 | 30 | 78 |
| Pharmaceuticals | Carbamazepine | 2.65 | 2.65 | ESI + | 236.09 | 237.10 | 194.10 179.00 | 20 35 | 120 |
| Pesticides | Clothianidin | 0.33 | 0.33 | ESI + | 249.01 | 250.11 | 169.10 132.00 | 13 14 | 135 |
| Pharmaceuticals | Clotrimazole | 5.88 | 5.93 | ESI + | 344.11 | 277.20 | 165.20 241.20 | 22 | 135 |
| Pharmaceuticals | Cyclophosphamide | -0.15 | -0.15 | ESI + | 260.02 | 261.20 | 140.10 106.10 | 20 22 | 140 |
| Pharmaceuticals | Diclofenac | 4.49 | 1.6 | ESI + | 295.02 | 296.00 | 214.00 215.00 | 34 | 92 |
| Pharmaceuticals | Diethylstilbestrol | 5.27 | 5.27 | ESI - | 268.15 | 267.20 | 251.10 237.00 | 26 | 78 |
| Pharmaceuticals | Diflufenican | 5.15 | 5.15 | ESI + | 394.07 | 395.20 | 266.00 183.00 | 22 54 | 156 |
| Plasticizers | Diisodecyl phthalate | 9.75 | 9.75 | ESI + | 446.34 | 447.50 | 141.10 289.20 | 13 11 | 135 |
| Pesticides | Dimethoat | 0.2 | 0.2 | ESI + | 229.00 | 230.00 | 199.00 125.00 | 10 22 | 72 |
| Plasticizers | Di-n-butylphthalate (DBP) | 4.6 | 4.6 | ESI + | 278.151794 | 279.30 | 149.00 205.10 | 19 10 | 135 |

| Family | Compounds | Log D (pH=3) | Log D (pH=6.7) | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Ion parents (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col | Fragmentor |
|-----------------|-------------------|--------------|----------------|-----------------|----------------------|-------------------|---|----------|------------|
| Pesticides | Epoxiconazole | 3.84 | 3.84 | ESI + | 329.07 | 330.20 | 121.00 123.00 | 21 22 | 135 |
| Pharmaceuticals | Erythromycin | -0.09 | 2.37 | ESI + | 733.46 | 734.60 | 158.10 576.20 | 37 19 | 150 |
| Pharmaceuticals | Estrone | 4.43 | 4.43 | ESI - | 270.16 | 269.30 | 145.10 159.00 | 38 34 | 78 |
| Pesticides | Fipronil | 4.43 | 4.43 | ESI - | 435.94 | 435.20 | 330.00 250.00 | 18 25 | 78 |
| Pesticides | Fluroxypyr-meptyl | 4.86 | 4.86 | ESI + | 366.09 | 367.30 | 255.00 209.00 | 11 26 | 135 |
| Pesticides | Flusilazole | 4.7 | 4.7 | ESI + | 315.1 | 316.30 | 247.30 219.20 | 19 30 | 124 |
| Pesticides | Foramsulfuron | 0.47 | -4.8 | ESI + | 452.44 | 453.30 | 182.20 83.00 | 38 74 | 94 |
| Plasticizers | Irganox 1076 | 12.5 | 12.5 | ESI + | 530.7 | 548.50 | 475.40 419.30 | 12 | 80 |
| Pharmaceuticals | Lincomycin | -3.45 | -1.47 | ESI + | 406.21 | 407.30 | 126.10 359.20 | 39 18 | 110 |
| Pesticides | Metazachlor ESA | -0.45 | -0.92 | ESI + | 323.37 | 324.20 | 69.20 134.10 | 4 24 | 94 |
| Pharmaceuticals | Metformine | -5.23 | -5.23 | ESI + | 129.1 | 130.10 | 60.00 71.00 | 14 20 | 92 |
| Pesticides | Metolachlor ESA | -0.35 | -0.35 | ESI + | 329.41 | 330.30 | 298.40 202.20 | 28 47 | 124 |
| Pesticides | Metolachlor OXA | 2.32 | -0.48 | ESI + | 279.33 | 280.20 | 248.10 73.10 | 8 34 | 92 |

| Family | Compounds | Log D (pH=3) | Log D (pH=6.7) | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Ion parents (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col | Fragmentor |
|-----------------------|-------------------------------------|--------------|----------------|-----------------|----------------------|-------------------|--|----------|------------|
| Pharmaceuticals | Metronidazole | -0.47 | -0.47 | ESI + | 171.06 | 172.10 | 128.00 82.00 | 14 26 | 80 |
| Pesticides | Nicosulfuron | 0.76 | -0.15 | ESI + | 410.41 | 411.20 | 182.20 213.30 | 29 33 | 151 |
| Pesticides | Omethoate | -0.68 | -0.68 | ESI + | 213.19 | 2140 | 124.90 182.90 | 20 4 | 82 |
| Pesticides | Oxadiazon | 5.29 | 5.29 | ESI + | 344.07 | 362.20 | 345.20 303.10 | 11 22 | 135 |
| Pharmaceuticals | Oxazepam | 3.00 | 3.00 | ESI + | 286.05 | 287.20 | 269.10 241.10 | 16 22 | 104 |
| Pharmaceuticals | Paracetamol | 0.96 | 0.96 | ESI + | 151.06 | 152.00 | 110.00 93.00 | 18 23 | 110 |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorododecanoic acid (PFDoA) | 4.56 | 4.56 | ESI - | 613.96 | 613.10 | 569.10 169.00 | 10 26 | 78 |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) | 3.08 | 3.08 | ESI - | 499.93 | 499.10 | 79.90 98.90 | 46 40 | 78 |
| Perfluorinated alkyls | Perfluorooctanoic acid (PFoA) | 1.81 | 1.81 | ESI - | 414.07 | 413.10 | 169.00 369.20 | 30 18 | 82 |
| Pesticides | Pirimiphos-methyl | 1.3 | 2.94 | ESI + | 305.1 | 306.30 | 108.10 164.00 | 32 24 | 135 |
| Pharmaceuticals | Primidone | 0.71 | -2.89 | ESI + | 218.25 | 219.10 | 91.00 161.90 | 28 4 | 77 |
| Pharmaceuticals | Ritalinic acid | -0.49 | 0.22 | ESI + | 219.28 | 220.10 | 84.10 56.10 | 16 52 | 119 |
| Pharmaceuticals | Sotalol | -2.91 | -2.37 | ESI + | 272.36 | 255.00 | 133.00 212.90 | 20 12 | 151 |

| Family | Compounds | Log D (pH=3) | Log D (pH=6.7) | Ionization mode | Molecular mass (m/z) | Ion parents (m/z) | Quantification transitions (m/z) qualification transitions (m/z) | E col | Fragmentor |
|------------------|--------------------------------|--------------|----------------|-----------------|----------------------|-------------------|---|----------|------------|
| Sugar substitute | Sucralose | -0.46 | -0.46 | ESI + | 397.63 | 419.00 | 239.00 221.00 | 15 | 110 |
| Pharmaceuticals | Sulfamethazine | 0.66 | 0.13 | ESI + | 278.33 | 279.30 | 186.20 156.20 | 26 30 | 130 |
| Pesticides | Terbutylazine | -1.51 | 0.77 | ESI + | 229.71 | 230.20 232.20 | 174.20 176.20 | 25 | 103 |
| Flame retardant | Tetrabromo bisphenol A (TBBPA) | 7.31 | 5.61 | ESI - | 539.76 | 538.80 | 78.90 415.70 | 56 44 | 120 |
| Pesticides | Tri-allate | 3.8 | 3.8 | ESI + | 303.00 | 306.00 | 86.00 145.00 | 14 26 | 135 |
| Pesticides | Trichlorfon | 1.2 | 1.2 | ESI + | 255.92 | 259.10 | 223.00 221.00 | 11 | 135 |
| Pharmaceuticals | Venlafaxine | -0.35 | 0.97 | ESI + | 277.4 | 278.20 | 58.10 260.10 | 16 4 | 97 |

Table S3 : Performances by direct injection analysed with LC/QqQ

| Molecules | LQ (pg) | Molecules | LQ (pg) |
|-----------------------------|------------|---------------------|------------|
| 1-Hydroxy Ibuprofen | 10 | Foramsulfuron | 0.2 |
| 2.4 MCPA | 0.8 | <i>Irganox 1076</i> | <i>PB</i> |
| 2.4-D | 0.9 | Lincomycin | 0.02 |
| 4-MC | 2 | Metazachlor ESA | 0.07 |
| Acetamidrid | 0.04 | Metformin | 1 |
| Acetylsalicylic acid | 3 | Metolachlor ESA | 0.6 |
| Aminotriazole | 2 | Metolachlor OXA | 0.8 |
| Ampicillin | 1 | Metronidazole | 0.1 |
| Asulam | 2 | Nicosulfuron | 0.01 |
| Atrazine 2 hydroxy | 0.2 | <i>NPE2O</i> | <i>PB</i> |
| Bentazone | 0.4 | Octinoxate | 5 |
| Bisphenol A | 0.1 | Omethoate | 0.04 |
| Bromoxynil | 0.2 | Oxadiazon | 6 |
| Carbamazepine | 0.03 | Oxazepam | 0.5 |
| Clothianidin | 2 | Paracetamol | 0.6 |
| Clotrimazole | 0.05 | PFD α A | 3 |
| Cyclophosphamide | 5 | PFOA | 1 |
| <i>DBP</i> | <i>PB</i> | PFOS | 0.4 |
| Diclofenac | 0.2 | Primidone | 2 |
| Diethylstilbestrol | 1 | Pyrimiphos-méthyl | 0.3 |
| Diflufenican | 0.07 | Ritalinic acid | 0.1 |
| <i>Diisodecyl phthalate</i> | <i>PB</i> | Sotalol | 0.2 |
| Dimethoate | 0.1 | Sucralose | 1 |
| Epoxiconazole | 1 | sulfamethazine | 0.4 |
| Erythromycin | 0.08 | TBBPA | 4 |
| Estrone | 2 | Terbutylazine | 0.1 |
| Fipronil | 0.04 | Tri-allate | 2 |
| Fluroxypyr-meptyl | 5 | Trichlorfon | 19 |
| Flusilazole | 0.05 | Venlafaxine | 0.2 |

Table S4 : LOQs (ng/L) for each compound in function the type of elution (n.d: not detected)

| | Binary pump H ₂ O + 2 % NH ₄ OH | Quaternary pump H ₂ O + NH ₄ OH | Quaternary pump H ₂ O + NH ₄ OH then H ₂ O + HCOOH |
|--------------------|--|--|--|
| 2.4 MCPA | 28 | 4 | 28 |
| 2.4-D | 13 | 7 | 38 |
| Bentazone | 5 | 5 | 20 |
| Metolachlor ESA | 8 | 3 | 6 |
| Metolachlor ESA | 7 | 6 | 3 |
| Metolachlor OXA | 0.6 | 2 | 5 |
| Nicosulfuron | 0.2 | nd | 1 |
| PFOA | 10 | 13 | 11 |
| Primidone | 2 | 3 | 0.3 |
| Ritalinic acid | 0.1 | 0.7 | 0.6 |
| sulfamethazine | 0.7 | 0.4 | 1 |
| Terbutylazine | 5 | 1 | 0.7 |
| Asulame | nd | 12 | 17 |
| Atrazine 2 hydroxy | 0.7 | 0.4 | 0.6 |
| Omethoate | 1 | 46 | 1 |
| Sotalol | 2 | 42 | 0.6 |
| Venlafaxine | 7 | 0.1 | 0.2 |

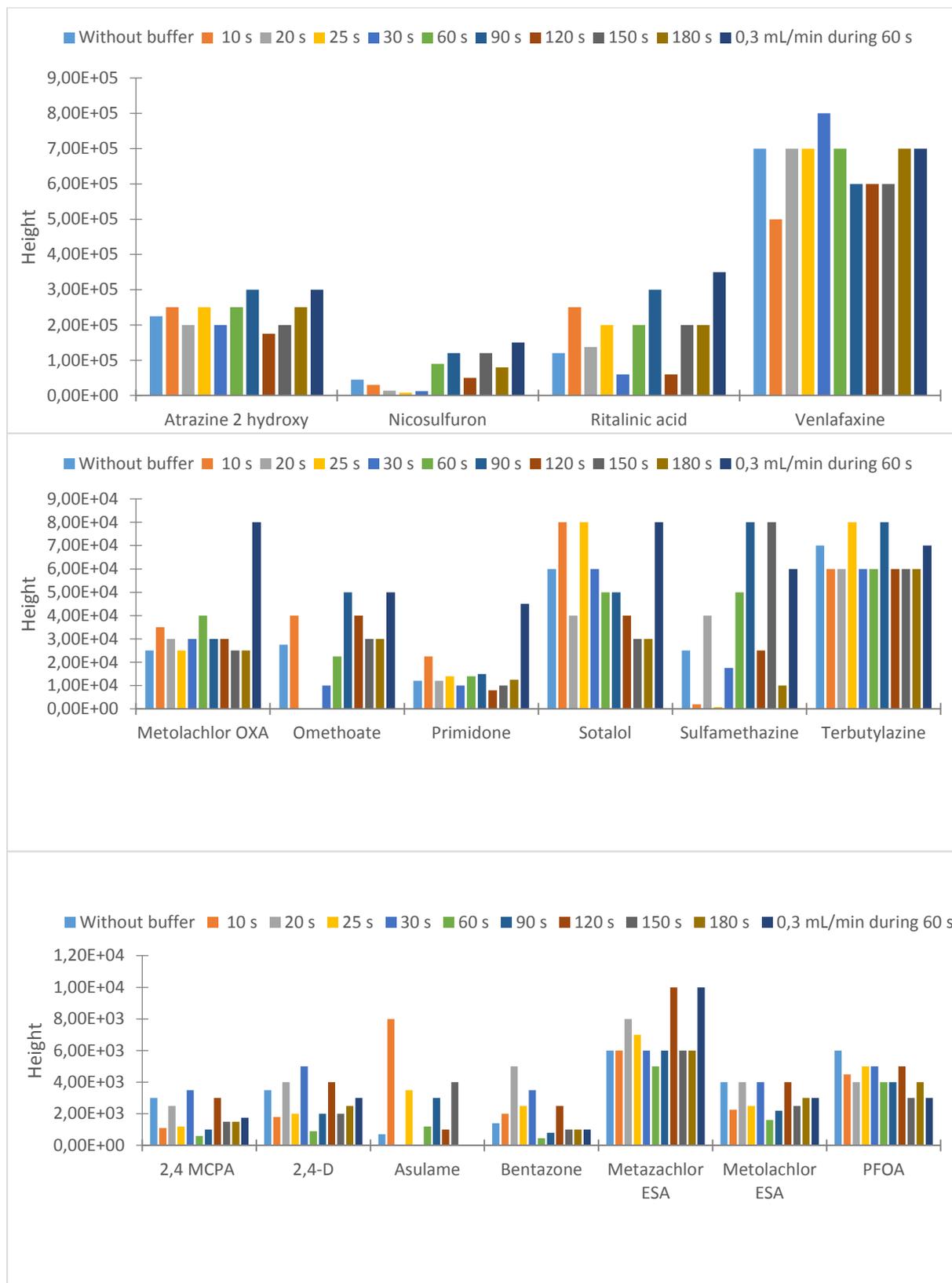


Figure S1: optimization of the basic buffer for the elution of polar compounds at 0.1 mL/min for several eluting times and flow rate (dark blue).

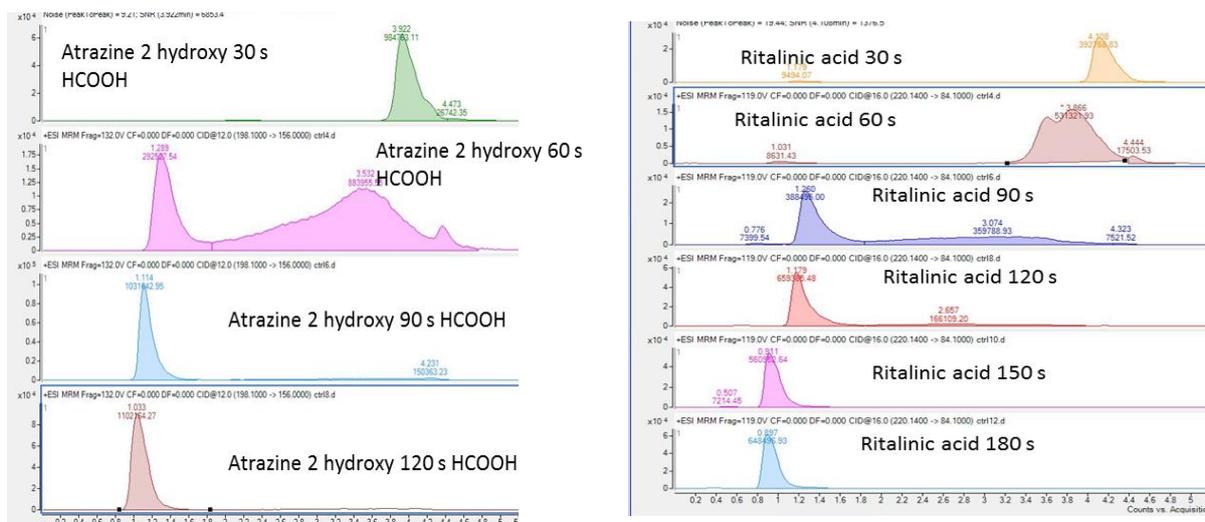


Figure S2 : example of chromatograms of elution with the acidic buffer at different times

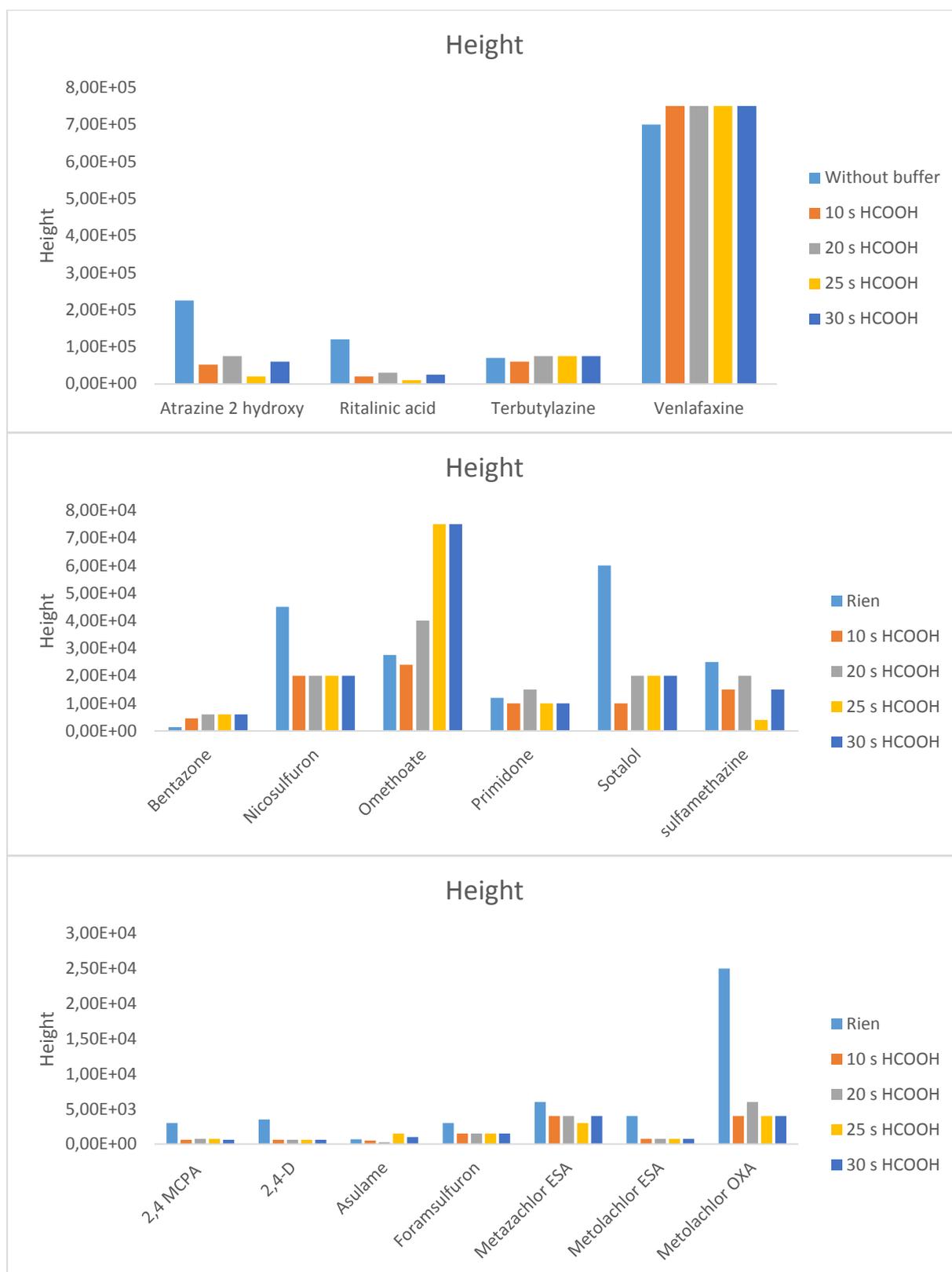


Figure S3 : optimization of the acidic buffer for the elution of polar compounds at 0.1 mL/min during for several eluting times

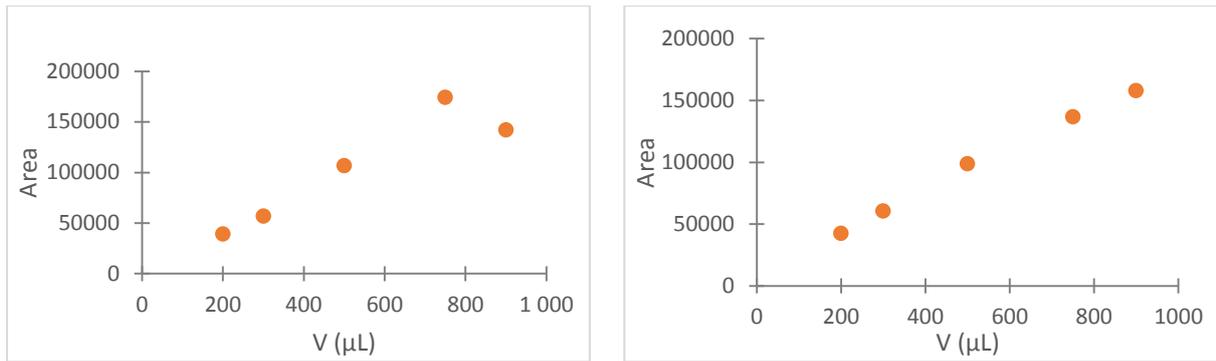


Fig S 5: Breakthrough volume for paracetamol (left) or tri-allate (right)

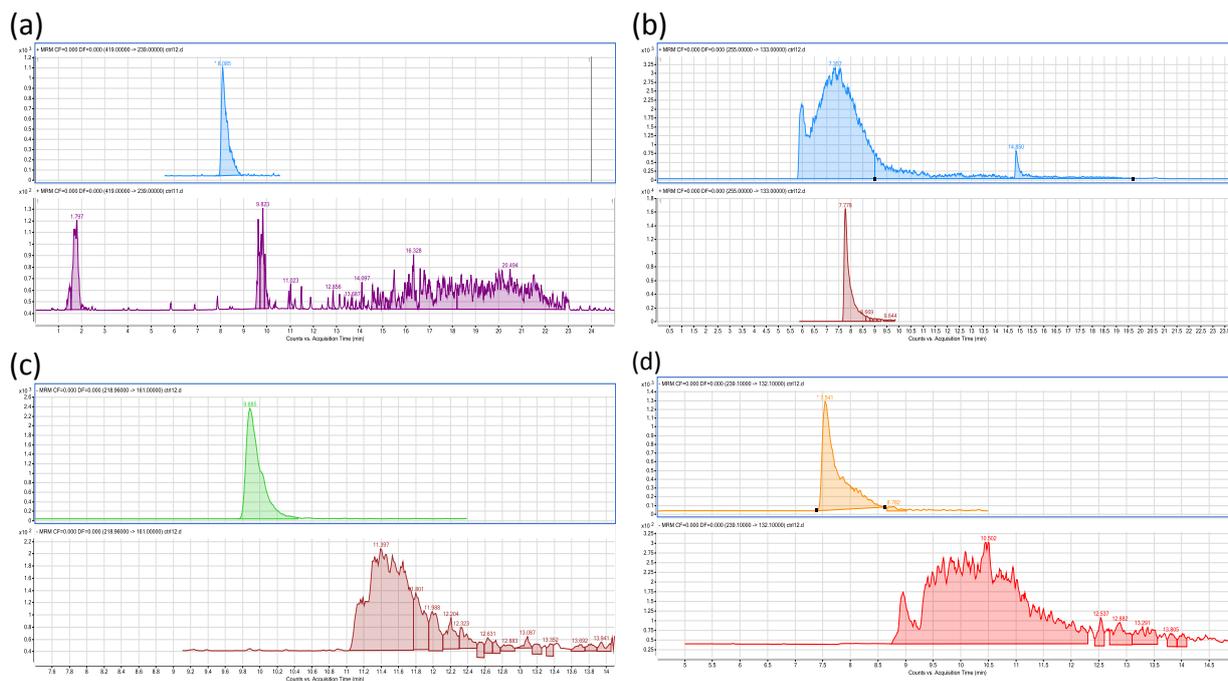


Fig S 6: Extraction of sucralose (a). 2.4-D (c). Sotalolol (b). bentazone (d) performed with Oasis HLB (top) and the multilayer cartridge (bottom)

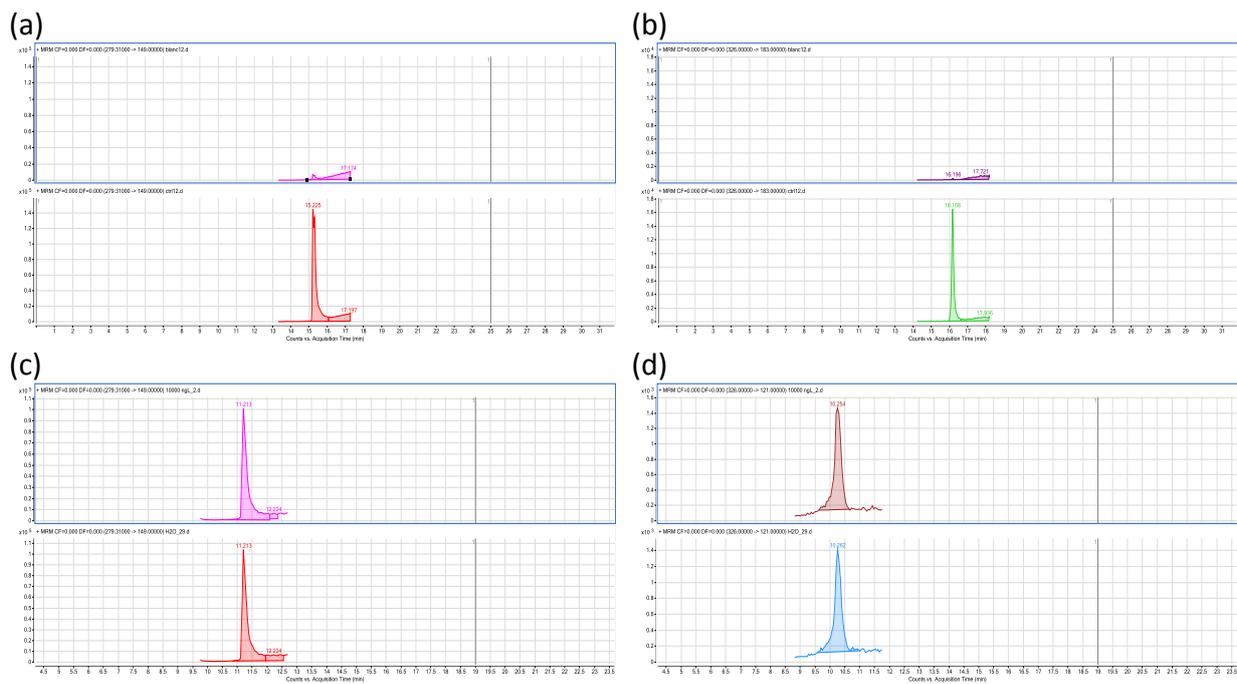


Fig S 7 : comparison between a blank (up) and a standard (down) analyzed in online SPE on a multilayer cartridge for the DBP (a) and NP2EO (b) and in direct injection (DBP (c) and NPE2O (d))

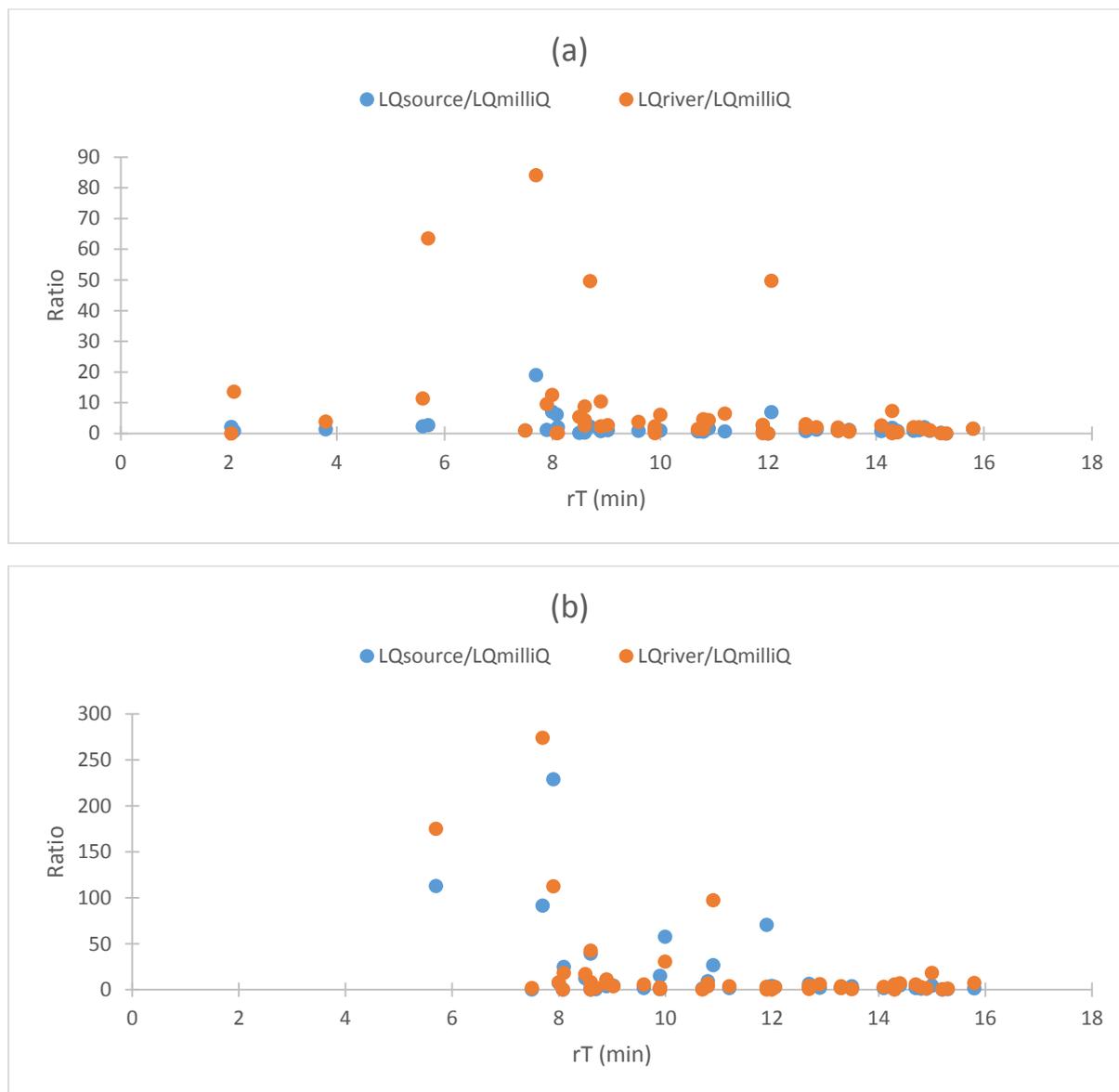
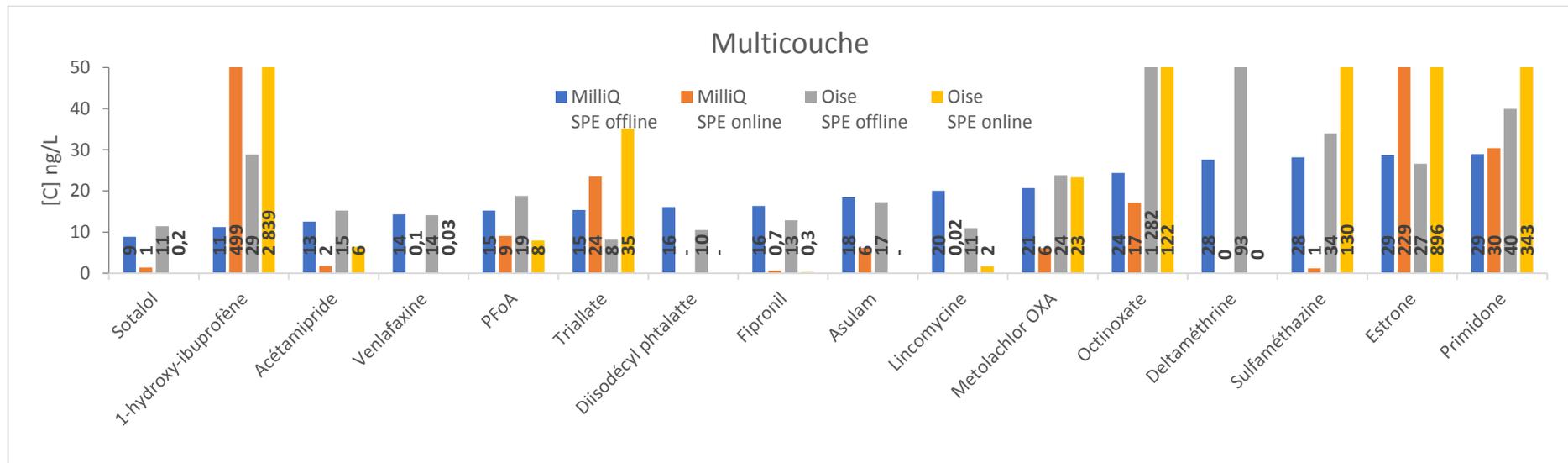
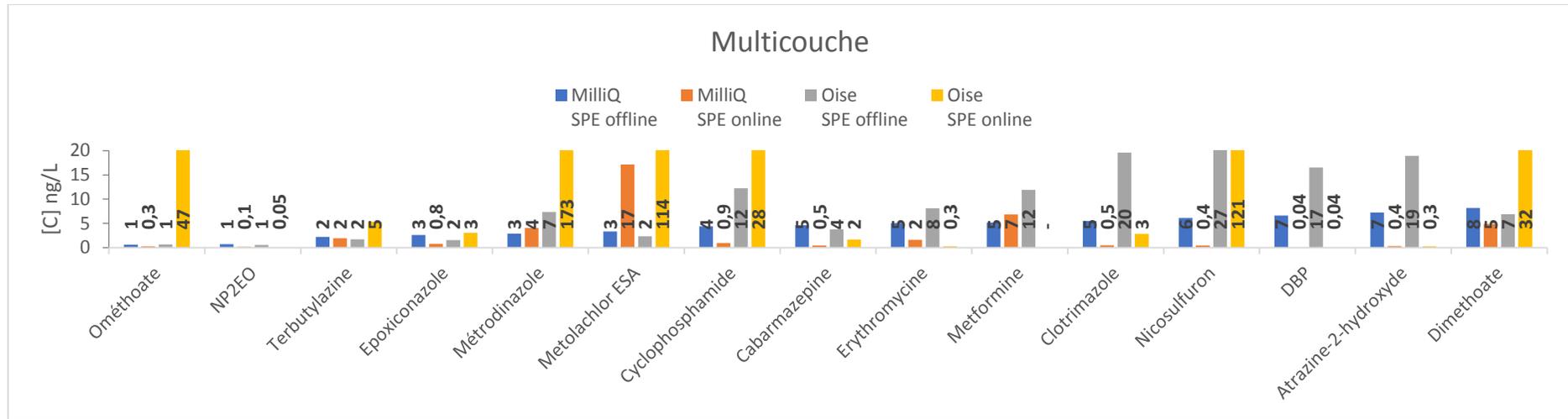
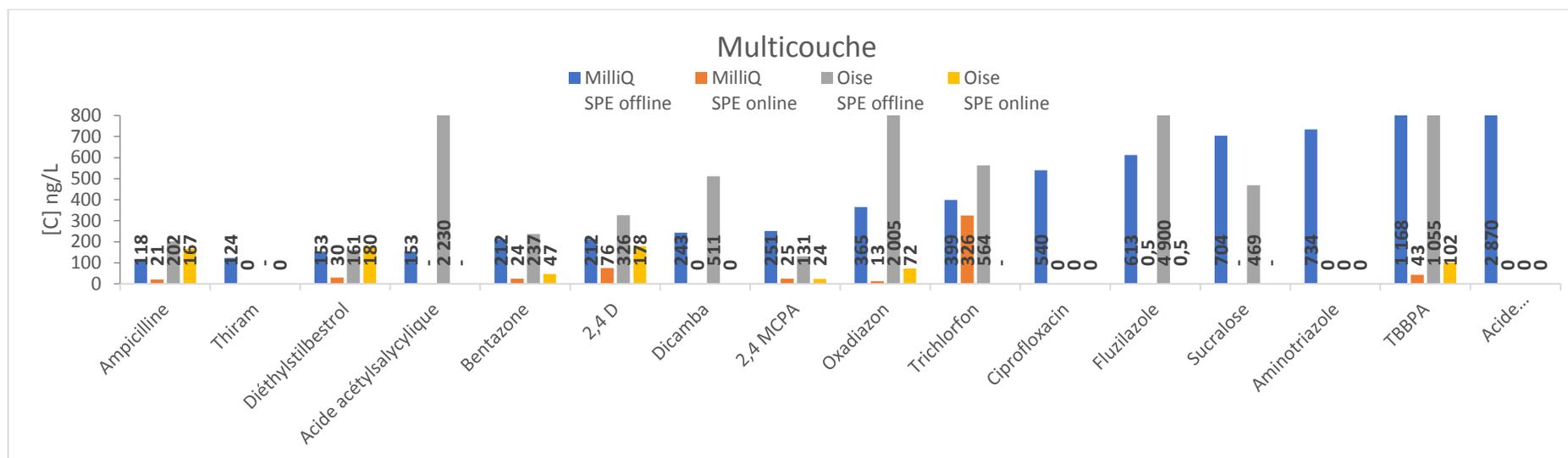
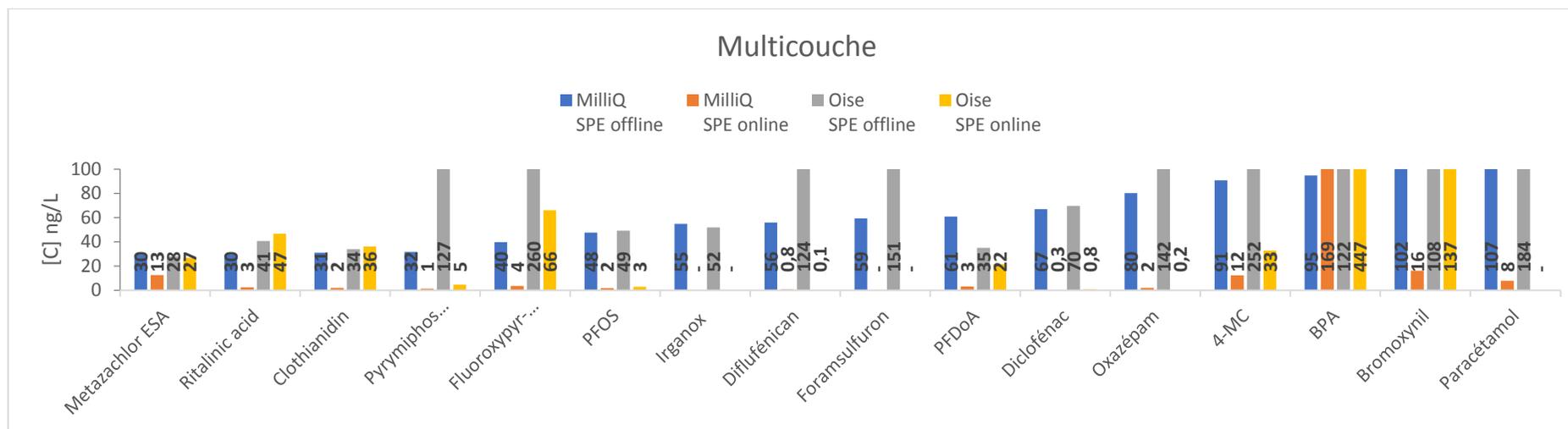
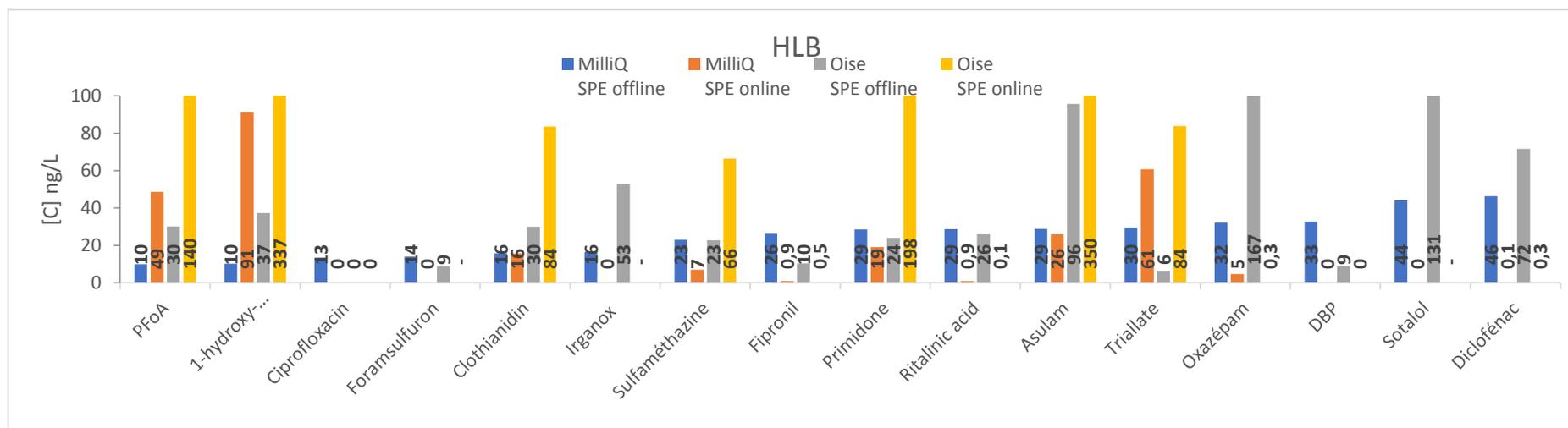
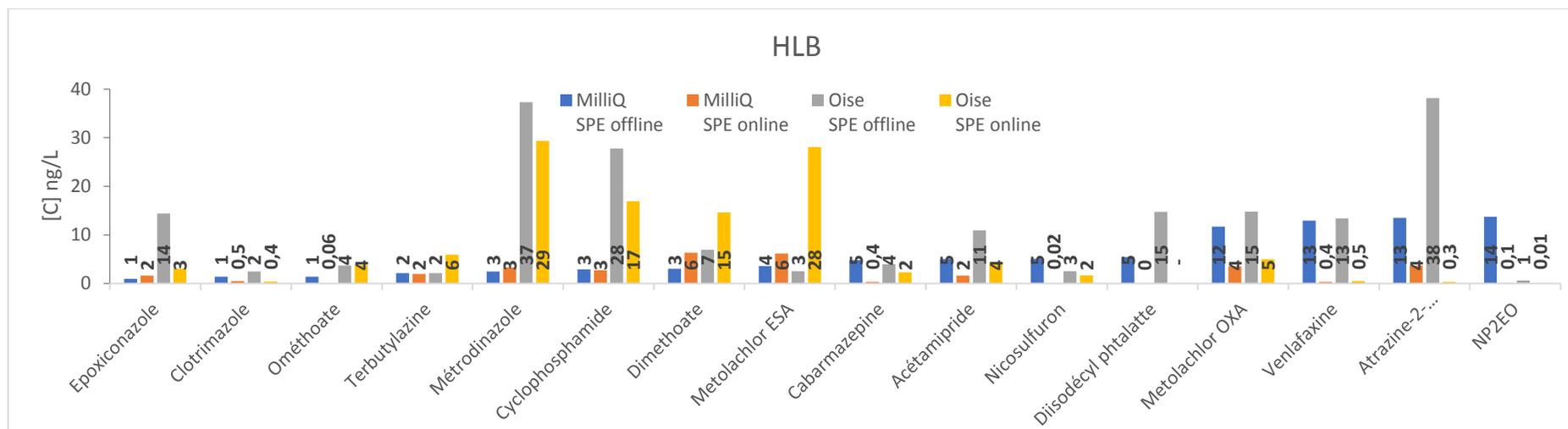


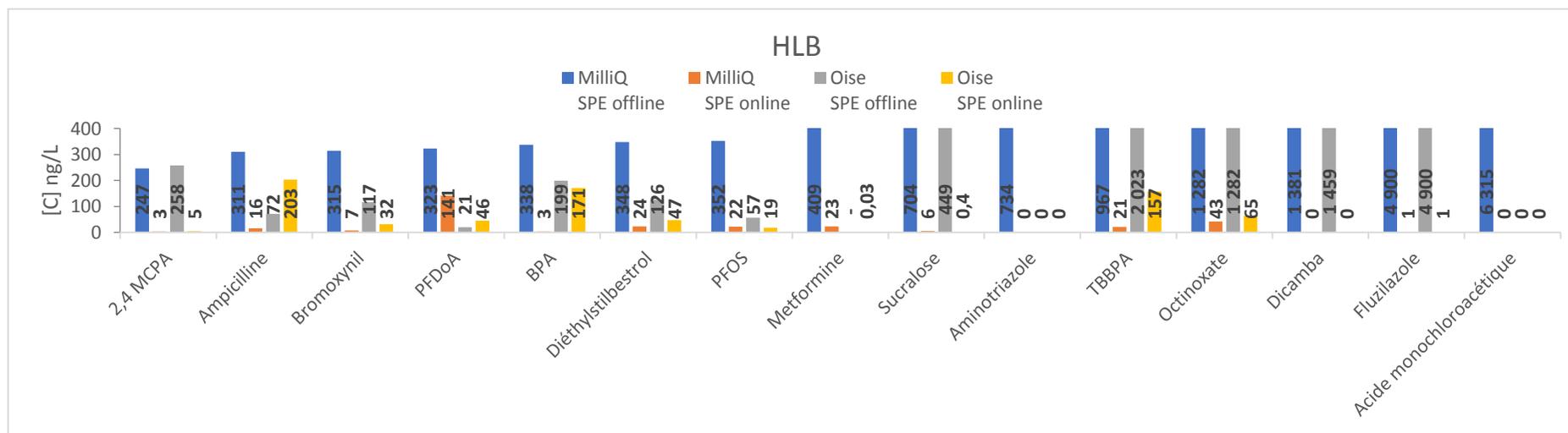
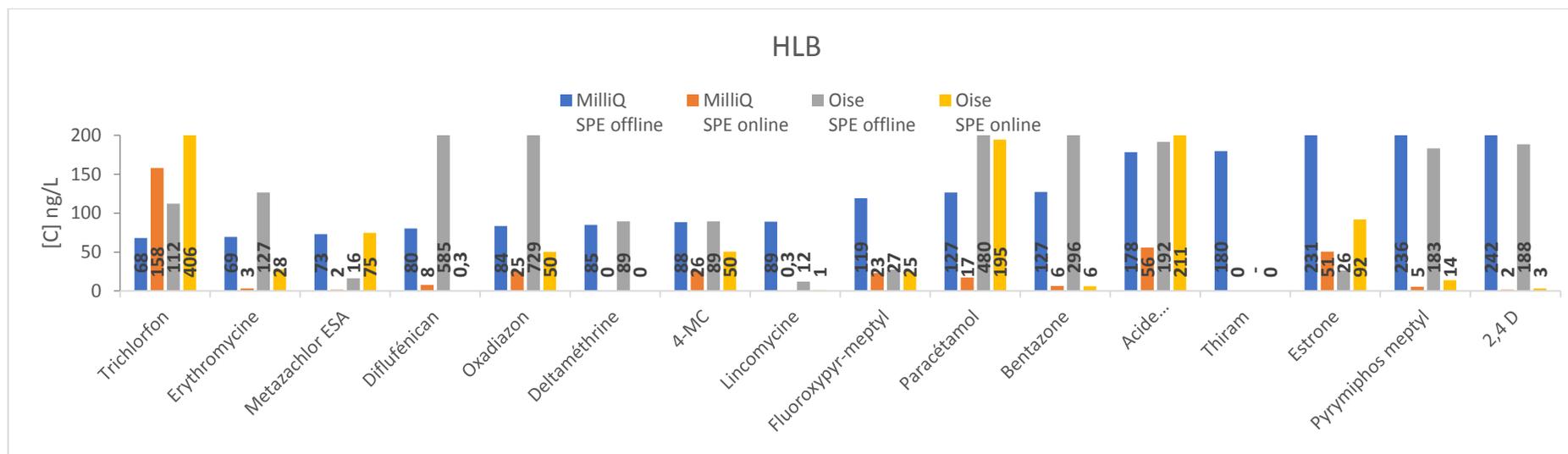
Fig S 8: Representation of the ratio of $LOQ_{source}/LOQ_{milliQ}$ and LOQ_{river}/LOQ_{milliQ} in function of the retention times with extraction with Oasis HLB (a) and multilayer cartridge (b)





Annexe 8 : Comparaison des sensibilités obtenues sur la cartouche multicouche en SPE hors ligne et en ligne sur l'eau milliQ et de l'Oise





Annexe 9: Présentation des sensibilité obtenues avec la cartouche Oasis HLB sur l'eau milliQ et de l'Oise