

Université de Montréal

**Développement d'une méthode d'extraction des
contaminants émergents dans les solides particuliers
par LDTD-APCI-MS/MS**

par

Hicham Darwano

Département de chimie

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M. Sc.)
en chimie

Novembre, 2013

© Hicham Darwano, 2013

Résumé

Douze contaminants émergents (composés pharmaceutiques, pesticides et hormones) ont été quantifiés et extraits de l'eau de rivières et d'échantillons d'eaux usées municipales. La séparation des solides en suspension est effectuée par filtration des échantillons d'eau. L'effet de filtration sur les concentrations de contaminants dissous a été évaluée afin de minimiser les pertes de composés cibles. Les échantillons ont été lyophilisés et ont été extraits en deux cycles par ultrasons combinés avec une étape de nettoyage sur cartouche d'extraction de type C18. La quantification a été réalisée en utilisant la spectrométrie de masse. Les recouvrements de la méthode pour tous les composés ont varié de 68 à 112% dans toutes les matrices étudiées, sauf pour le sulfaméthoxazole et le diclofénac où des recouvrements plus modestes ont été obtenus (38 à 85%). Les limites de détection pour les 12 analytes dans les sédiments et particules en suspension (SPM) de la rivière variaient de 0,7 à 9,4 ng g⁻¹ et de 21 à 92 ng g⁻¹, pour les échantillons SPM de station d'épuration. Tous les contaminants émergents cibles ont été détectés à des concentrations variant de 3 à 5440 ng g⁻¹ dans les matrices étudiées, les concentrations les plus élevées ont été observées dans les échantillons SPM de stations d'épuration. Une partie importante de certains de ces contaminants est clairement associée aux sédiments de rivière ou aux particules en suspension. L'optimisation des processus de traitement de l'eau et le devenir environnemental doit absolument tenir compte de la fraction de contaminants qui liée à des particules si on espère avoir un bilan de masse raisonnable.

Mots clés : particules en suspension, contaminants émergents, boues d'épuration, eaux usées, station d'épuration, LDTD, filtration, extraction

Abstract

We developed a protocol to quantify 12 emerging contaminants (pharmaceuticals and hormones) and pesticides extracted from suspended particulate matter (SPM) of river water and municipal wastewaters samples. The separation of suspended solids was carried through filtration of water samples. We tested a series of 6 different filter types. The effect of filtration on the concentrations of dissolved contaminants was evaluated in order to minimize losses of target compounds. The river bottom sediments samples were lyophilized and both SPM and sediment samples were subjected to ultrasonic extraction combined with C18 cartridge clean-up. Quantifications were realized using mass spectrometry. The overall method recoveries of all compounds ranged from 38 to 112 % in all studied matrices, poor recoveries were achieved for sulfamethoxazole and diclofenac (recoveries for all other compounds in the wastewater treatment plant (WWTP) samples were 68 to 111%). The detection limits in sediments and SPM from river samples for the 12 analytes varied from 0.7 to 9.4 ng g⁻¹ and from 21 to 92 ng g⁻¹ for WWTP SPM samples. All target emerging contaminants were detected with concentrations ranging from 3 to 5440 ng g⁻¹ in the studied matrices, with the highest concentrations observed in WWTP SPM samples. A significant portion of some of those contaminants is clearly associated with bottom sediments or suspended particulates. Optimization of water treatment processes and environmental fate must absolutely consider the fraction of contaminants which is particulate-bound if one hopes to have a reasonable mass balance.

Keywords: suspended particulate matter; emerging contaminants; sewage sludge; wastewater treatment plant; LDTD; filtration, extraction.

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	xi
Liste des abréviations, des sigles et des acronymes.....	xiii
Remerciements.....	xvi
Chapitre 1. Introduction.....	1
1.1. Mise en contexte.....	1
1.2. Objectif du projet.....	2
1.3. Principales classes des contaminants émergents étudiés.....	4
1.3.1. Composés pharmaceutiques.....	4
1.3.1.1. Source.....	5
1.3.1.2. Toxicité.....	6
1.3.2. Hormones stéroïdiennes.....	7
1.3.2.1. Source.....	8
1.3.2.2. Toxicité.....	8
1.3.3. Pesticides.....	9
1.3.3.1 Source.....	10
1.3.3.2 Toxicité.....	11
1.4. Sélection des contaminants émergents.....	11
Chapitre 2. Eau usée : composition et caractéristique.....	14
2.1 Les eaux usées.....	14
2.2. Caractéristiques des eaux usées.....	15
2.3. Phase solide.....	15
2.3.1. Classement par taille.....	16
2.3.2. Matière organique.....	17
Chapitre 3. Échantillonnage et préparation des échantillons.....	19
3.1. Les procédures d'échantillonnage.....	19
3.2. Stockage des échantillons.....	20
3.3 Conservation des échantillons.....	21

3.4 Prétraitement des échantillons	21
3.5 Préparation des échantillons	23
Chapitre 4. Techniques d'extraction et d'analyses	24
4.1. L'analyse des polluants émergents	24
4.1.1 Échantillons aqueux	24
4.1.2 Échantillons solides	24
4.2. Techniques utilisées	25
4.2.1. L'extraction en phase solide	25
4.2.2. Extraction assistée par ultrasons	26
4.3 Méthodes analytiques.....	27
4.3.1 Systèmes de détection	28
4.3.2 Sources d'ionisation.....	29
Chapitre 5. LDTD-APCI couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)	30
5.1.Échantillonneur	30
5.2. Source de désorption thermique.....	31
5.3. Source d'ionisation APCI	32
Chapitre 6. A new protocol for the analysis of pharmaceuticals, pesticides and hormones in sediments and suspended particulate matter from rivers and municipal wastewaters.....	35
6.1. Introduction.....	37
6.2. Experimental	40
6.2.1. Chemicals and material.....	40
6.2.2. Sample collection and pretreatment.....	41
6.2.3. Filtration recovery test	42
6.2.4. Distribution study.....	42
6.2.5. Ultrasonic solvent extraction	43
6.2.6. Sample clean-up procedure.....	43
6.2.7. LDTD-MS/MS system.....	43
6.2.8. Calibration and validation.....	44
6.3. Results and discussion	45
6.3.1. Filtration and distribution study.....	45
6.3.1.1. Filtration study.....	45

6.3.1.2. Distribution study.....	47
6.3.2. Method development	48
6.3.3. Method validation	50
6.4. Application to real samples.....	52
6.5. Conclusion	54
Supporting Information.....	56
Chapitre 8. Conclusion.....	65
Bibliographie.....	i

Liste des tableaux

Table 1. Utilisation et source des pesticides (Birkett and Lester, 2003).....	11
Table 2. Liste et structure chimique des composés sélectionnés.	12
Table 3. Selected physicochemical properties of the studied compounds.	40
Table 4. Recoveries (mean \pm SD) of each compounds in suspended matter from rivers and municipal wastewaters samples in replicate (n=3) for solid samples spiked at two levels. The results for the spiking experiments have been corrected for blanks (n = 3).	51
Table 5. Calibration and validation parameters including coefficient of correlation R^2 , MDLs (ng g ⁻¹), repeatability (duplication of same sample - intra-day, n=5) and reproducibility (duplication of same sample - inter-day, n=2) of the method in solid samples.	52
Table 6. Concentration levels of select compounds (mean \pm SD, n=6) in suspended matter from rivers and wastewater samples before and after a primary sedimentation treatment. The trend arrows shows if the concentration in the SPM is decreasing, increasing or staying roughly similar before and after the WWTP treatment (p<0.05). Values in the rows with the same letters, are not statistically different (n = 3; p < 0.05 level using a Tukey's-b post hoc test).	54
Table S 1. List of membrane filters evaluated in this study.	56
Table S 2. Filtration recovery of target compounds from spiked dd-water sample (200 μ g L ⁻¹) for various filter types with polypropylenes tube (n=3). Values in the rows with the same letters, are not statistically different (n = 3; p < 0.05 level using a Tukey's-b post hoc test)	57
Table S 3. Filtration recovery of target compounds from spiked dd-water sample (200 μ g L ⁻¹) for various filter types with silanized glass tube (n=3). Values in the rows with the same letters, are not statistically different (n = 3; p < 0.05 level using a Tukey's-b post hoc test).....	57
Table S 4. Filtration recovery of target compounds from spiked dd-water sample (200 μ g L ⁻¹) for various filter types with glass tube (n=3). Values in the rows with the same letters, are not statistically different (n = 3; p < 0.05 level using a Tukey's-b post hoc test).	57

Table S 5. Filtrate fraction and fraction retained by 25mm-mixed cellulose esters filter for target compounds for different spiked samples ($200 \mu\text{g L}^{-1}$), (mean \pm SD, n=3).....	58
Table S 6. Filtrate fraction and fraction retained by 25mm-Polyester membrane filter for target compounds for different spiked samples ($200 \mu\text{g L}^{-1}$), (mean \pm SD, n=3).....	58
Table S 7. Filtrate fraction and fraction retained by 25mm-glass fiber membrane filter for target compounds for different spiked samples ($200 \mu\text{g L}^{-1}$), (mean \pm SD, n=3).....	58
Table S 8. Extraction recovery of target compounds from spiked suspended matter from municipal wastewaters samples filtered through glass fiber filter in replicate (n=3; 300 ng g^{-1}). Values in the rows with the same letters, are not statistically different (n = 3; p < 0.05 level using a Tukey's-b post hoc test).	59

Liste des figures

Figure 1. Schéma du fonctionnement de l'interface LDTD (Phytronix Technologies Inc, 2013).....	32
Figure 2. Une figure schématique d'une interface APCI (Bokman, 2002).	32
Figure 3. Mécanismes d'ionisation en mode positif APCI (+).	34
Figure 4. Mécanismes d'ionisation en mode négatif APCI (-).	34
Figure 5. Filtration recovery of target compounds from spiked purified water sample (200 $\mu\text{g L}^{-1}$) for various filter types with polypropylenes tube (n=3). Error bars represent standards deviations of triplicate measurements.....	47
Figure S 1. Filtration recovery of target compounds from spiked purified water sample (200 $\mu\text{g L}^{-1}$) for various filter types with silanized glass tube (n=3). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements.	60
Figure S 2. Filtration recovery of target compounds from spiked purified water sample (200 $\mu\text{g L}^{-1}$) for various filter types with glass tube (n=3). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements.....	60
Figure S 3. Partition for target compounds between filtrate phase of different spiked samples (200 $\mu\text{g L}^{-1}$) and 25mm-mixed cellulose esters membrane filter (0.45 μm) (n=3). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements. A purified water, B tap water, C Wastewater influent.	61
Figure S 4. Partition for target compounds between filtrate phase of different spiked samples (200 $\mu\text{g L}^{-1}$) and 25mm-Polyester membrane filter (0.4 μm) (n=3). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements. A purified water, B tap water, C wastewater influent.	62
Figure S 5. Partition for target compounds between filtrate phase of different spiked samples (200 $\mu\text{g L}^{-1}$) and 25mm-glass fiber membrane filter (0.4 μm) (n=3). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements. A purified water, B tap water, C wastewater influent.	63

Figure S 6. Extraction recovery of target compounds from spiked suspended matter from municipal wastewaters samples filtered through glass fiber filter in replicate (n=3; 300 ng g⁻¹). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements..... 64

Liste des abréviations, des sigles et des acronymes

AP	Affinité protonique
APCI	Atmospheric pressure chemical ionization / ionization chimique à pression atmosphérique
APPI	Atmospheric pressure photoionization / photo-ionisation à pression atmosphérique
ASE	Accelerated solvent extraction / Extraction accélérée par solvant
ATZ	Atrazine
BOD	Biochemical oxygen demand / Demande biochimique en oxygène
CAF	Caffeine / Caféine
CAR	Carboxen
CBZ	Carbamazepine / Carbamazépine
CFU/ml	Colony-forming unit / millilitre
CIE	Contaminants d'intérêt émergents
COD	Chemical oxygen demand / Demande chimique en oxygène
COD	Carbone organique dissous
COP	Carbone organique particulaire
COT	Carbone organique total
CW	Carbowax
DCF	Diclofenac / Diclofénac
DEA	Desethylatrazine
DVB	Divinylbenzene
E1	Estrone
E2	17 β -estradiol
E3	Estriol
ECD	Electron Capture Detector / détecteur à capture d'électrons
EDCs	Endocrine disruptive compounds / Perturbateurs endocriniens
EDCs	Endocrine disruptive compounds / Perturbateurs endocriniens
EE2	Ethinylestradiol
ESI	Electrospray ionisation

FPD	FlamePhotometer Detector ou photomètre de flamme
GC	Gas chromatography / Chromatographie en phase gazeuse
GC-MS	Gas chromatography - mass spectrometry / Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycyclique
HLB	Hydrophilic-lipophilic Balance / Équilibre hydrophile-lipophile
HPLC	High performance liquid chromatography / Chromatographie liquide à haute performance
IT	Ion trap /Trape ionique
K _{ow}	Coefficient de partage Octanol/Eau - Octanol/water partition coefficient
LC	Liquid chromatography / Chromatographie liquide
LC-MS	Liquid chromatography-mass spectrometry / Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse
LDTD	Laser diode thermal desorption / Désorption thermique induite par diode laser
LEVO	Levenorgestrel
LLE	Liquid-liquid extraction / Extraction liquide liquide
MAE	Microwave-assisted extraction /Extraction assistée par micro-ondes
MIP	Molecularly Imprinted Polymer/ polymere imprimé
MO	Matière organique / Organic matter
MON	Matière organique naturelle / Natural organic matter
MPROG	Medroxyprogesterone
MRM	Multiple reaction monitoring /Suivi de réactions multiples
MS	Mass spectrometry / Spectrométrie de masse
MS/MS	Tandem mass spectrometry / Spectrométrie de masse en tandem
NOR	Northindrone
NPD	Nitrogen-phosphorus detector / détecteur azote-phosphore
PCB	Polychlorobiphényles
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PEHD	Polyéthylène haute densité / high-density polyethylene
PLE	Pressurized liquid extraction / Extraction par liquide pressurisée

PPCPs	Pharmaceuticals and personal care products / Produits pharmaceutiques et de soins personnels
PPY	Polypyrrole
PROG	Progesterone
PTFE	Polytétrafluoroéthylène/ Polytetrafluoroethylene
Q	Quadripole / quadripôle
Q-LIT	Quadrupole–linear ion trap/ trappe ionique linéaire
QqLit	Quadrupole-linear ion trap / Quadripôle-trappe d'ions linéaire
QqQ	Triple quadripole/ Triple quadripôle
QqQ	Triple quadrupole
QqTOF	Quadrupole-time of flight / quadrupole et temps de vol
Q-TOF	Quadrupole-time of flight / Quadripôle-temps de vol
RAM	Restricted access material
RAMs	Restricted access material
SBSE	Stir bar Sorptive Extraction / microextraction sur barreau d'agitation
SFE	Supercritical fluid extraction / Extraction par fluide supercritique
SMX	Sulfamethoxazole / Sulfaméthoxazole
SPE	Solide phase extraction / Extraction sur phase solide
SPME	Solid phase microextraction / Microextraction en phase solide
SPME	Solid phase microextraction / Microextraction en phase solide
SRM	Selected reaction monitoring / Balayage sélectif d'ions fragments
STW	Sewage treatment works /Traitement des eaux usées
SXE	Soxhlet extraction / Extraction soxhlet
TOF	Time-of-flight/ Temps de vol
UAE	Ultrasound-assisted extraction / Extraction assistée par ultrasons
UV	Ultraviolet
WW	Wastewater / Eaux usées
WWTP	Wastewater treatment plant / Station de traitement des eaux usées

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier mon directeur de recherche, le professeur Sébastien Sauvé, pour m'avoir si bien accueilli au sein de son groupe de recherche, de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail et pour toute la confiance qu'il m'a accordée au long du projet. Merci aussi pour ses encouragements, son soutien et ses qualités humaines qui m'ont été très utiles dans les moments plus délicats et difficiles dans mon séjour.

J'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, en particulier mes collègues de laboratoire : Khadija Aboufadel, Sung Vo Duy, Ladji Meite, Paul Fayad, Mariam Hajj-Mohamad, Amel El Messabeh, Guillaume Cormier, Amanda Naldi, Marie-France Morissette et Farida Wissal Rabii, je vous remercie sincèrement pour votre soutien et vos encouragements.

Une profonde gratitude à Khadija Aboufadel, Meite Ladji pour leurs conseils avisés, leurs échanges et leur appui scientifique et je tiens à remercier Mariam Hajj-Mohamad pour son aide précieuse et le partage de ces échantillons.

Cette recherche a été possible grâce au soutien de ma famille, toute ma gratitude et ma reconnaissance à vous pour votre patience et vos sacrifices, je voudrais aussi exprimer ma gratitude envers la famille de ma cousine Mariam, son mari Mostafa et le petit Yahya pour leur amitié, le bonheur et leur gentillesse.

Je tiens aussi à remercier mes amis qui compte tenu du nombre ne seront pas tous cités ici, Rachid, Tawfik, Abderahim, Hicham, Mostafa..., merci pour votre suivi et l'intérêt envers ma recherche.

Chapitre 1. Introduction

1.1. Mise en contexte

Pendant des décennies, la présence dans l'environnement des produits chimiques a été réglementée et leur effet sur l'environnement a été étudié; pesticides, hydrocarbures aromatiques et métaux ont été reconnus comme des polluants prioritaires. Les récents progrès des méthodes analytiques permettent de déceler la présence de nouveaux produits inattendus, non réglementés et considérés auparavant comme sans risque. Un grand nombre de ces produits figurent dans la vie quotidienne des activités urbaines, utilisés en grande quantité pour diverses raisons dans l'industrie, l'agriculture ainsi que pour la santé et le bien être humain et animal. Une grande variété de ces produits sont considérés comme des contaminants émergents CE, non seulement à cause de leur récent développement mais également leur présence dans l'environnement qui n'était pas décelée auparavant; on inclut dans ce terme, les produits chimiques ménagers, les produits industriels, les produits pharmaceutiques et les produits de soins personnels, des œstrogènes naturels ou synthétiques, des pesticides, des retardateurs de flammes, les sous-produits de désinfection ainsi que plusieurs autres.

La présence de ces composés à des concentrations de l'ordre de $\mu\text{g L}^{-1}$ ou ng L^{-1} dans les milieux aquatiques et les sols est considérée comme une menace potentielle sur les écosystèmes environnementaux (Lapworth et al., 2012); une préoccupation croissante soulève d'une part de l'introduction continue provenant d'une grande variété de source et d'une autre part du manque des données d'occurrence et de risque écotoxicologique. La façon dont ces composés sont introduits dans l'environnement dépend de leur utilisation ainsi que de leur mode d'application. Une variété de sources sont reconnues comme point d'entrée dans l'environnement et l'élimination incomplète dans les processus de traitement des eaux usées est considérée la principale source de diffusion environnementale. Comme ces composés sont utilisés en grande quantité dans la vie quotidienne, ils sont introduits continuellement dans le milieu aquatique par les effluents des stations d'épuration, principalement via les rejets industriels (agents tensio-actifs, des agents ignifuges), l'excrétion (produits pharmaceutiques,

les hormones, les produits de soins personnels) ou l'élimination des substances inutilisés ou périmées (Petrović et al., 2003).

En conséquence, les contaminants émergents peuvent être considérés comme "pseudo-persistants" même si la dégradation est relativement efficace. Au point de rejet, ou le relargage est en continu, les organismes seront exposés à une concentration à peu près constante. Il y a différents sorts possibles suite à leur libération dans l'environnement. Leur devenir environnemental est principalement contrôlé par des processus physiques, chimiques et biologiques (adsorption, volatilisation, photodégradation, dégradation chimique et dégradation microbienne) qui contribuent à leur élimination ou à leur accumulation et qui décrivent la base des procédés d'élimination de ces composés dans les stations d'épuration.

La plupart de ces composés ont tendance à s'adsorber sur les phases solides. Le devenir et le comportement de ces composés dépendent donc dans une large mesure de leur devenir et du comportement de ces phases solides (particules en suspension, colloïdes, sédiments, biosolides). Cette fraction particulaire est omniprésente dans les milieux naturels et constitue une proportion considérable de la composition des milieux aquatiques. L'analyse de ces composés dans les milieux environnementaux exige donc l'identification et la quantification dans les milieux aqueux mais aussi sur les solides. Jusqu'à présent, les méthodes d'analyse sont en progression, mais beaucoup reste à développer d'autant pour les matrices complexes.

En réponse au manque des données, il y a un effort croissant pour évaluer la présence, le devenir et la toxicité de ces contaminants dans l'environnement. En conséquence des méthodes d'analyse doivent être développées et mises en place afin de permettre de mieux comprendre le sort et le comportement des contaminants émergents dans les stations d'épuration et dans les écosystèmes récepteurs, sol et milieux aquatiques.

1.2. Objectif du projet

L'objectif principal de ce projet a été de développer et valider une méthode d'extraction appropriées à la détermination de douze composés de différentes classes dans la phase particulaire (particules dont la taille $>100\mu\text{m}$) des échantillons d'un décanteur primaire de station d'épuration municipale et dans des sédiments. Cette méthode est basée sur la

combinaison de sonication en bain à ultrasons combinée avec l'extraction sur phase solide (SPE-solid phase extraction) pour extraire et nettoyer la matrice. Les extraits sont ensuite analysés par désorption thermique par diode laser (LDTD-laser diode thermal desorption) avec ionisation chimique à pression atmosphérique (LDTD-APCI) couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS).

Le principal défi de cette étude réside dans le développement d'une méthode multi-résidus capable de faire face aux variétés de propriétés physico-chimiques des composés sélectionnés et de gérer les difficultés liées à l'extraction des matrices et aux effets d'interférences potentielle en spectrométrie de masse. Dans ce travail, une gamme diversifiée de composés, des contaminants lipophiles (hormones), des traceurs polaires et des contaminants (pesticides, produits pharmaceutiques) a été sélectionnée en fonction de propriétés physicochimiques des cibles, prenant soin de représenter une variété de contaminants et considérant les données de consommation et d'occurrence. La méthode a été développée avec des échantillons prélevés d'un réservoir de décantation primaire d'une station d'épuration et validée sur un ensemble d'échantillons. Cette méthode va nous permettre d'approfondir nos connaissances sur la présence de contaminants dans la phase particulaire afin d'évaluer les sources potentielles de ces composés dans l'environnement.

1.3. Principales classes des contaminants émergents étudiés

1.3.1. Composés pharmaceutiques

Parmi les principaux contaminants dans l'environnement, les composés pharmaceutiques constituent un groupe important qui a pris une importance particulière en raison de leur détection dans l'eau potable (Snyder et al., 2003; Donn et al., 2008). Bien que leur rejet environnemental soit probablement significatif depuis plus d'un siècle, leur étude a été intensifiée dans les dernières années en raison de l'avancement des techniques d'analyse. Les premiers rapports de la présence des médicaments à usage humain dans l'environnement date de la fin des années 70 (Hignite and Azarnoff, 1977), et depuis, de nombreuses études ont mis en évidence leur présence dans les milieux environnementaux, plus que 80 substances pharmaceutiques ont été détectées dans les eaux naturelles ou souterraines et les eaux usées (Heberer, 2002) et également dans les sols agricoles soumis à l'épandage de boues d'épuration municipales (Kinney et al., 2008; Wu et al., 2009).

Les composés pharmaceutiques couvrent une vaste classe de molécules dont la variabilité de structure, fonctionnement et activité est développée dans le but d'obtenir un effet biologique chez les humains ou les animaux. Ils sont classés en fonction de leur utilisation au lieu de leur similitude structurelle (des antibiotiques, des analgésiques, des substances anti-inflammatoires, les antihistaminiques etc.); les composés de même classe peuvent avoir des structures et propriétés remarquablement différentes les unes des autres (Kümmerer, 2009) et donc, des destins différents dans l'environnement.

Traditionnellement, les médicaments n'ont que rarement été considérés comme contaminants potentiels dans l'environnement, il y avait occasionnellement des examens en lien avec leur métabolisme et leur excrétion, mais les études de ces composés dans l'environnement ont réellement débuté en 1990. Certains de ces composés peuvent interférer à faible concentrations (de l'ordre de ng L^{-1}) avec le fonctionnement de certains écosystèmes (Halling-Sørensen et al., 1998). Parmi les composés pharmaceutiques souvent détectés dans les milieux aquatiques, on retrouve les inflammatoires non stéroïdiens (diclofénac, ibuprofène), les anticonvulsivants (carbamazépine), les régulateurs de lipides (gemfibrozil) et les antibiotiques (sulfamides, tétracyclines).

La détection des composés pharmaceutiques dans les milieux environnementaux ne dépend pas seulement des performances d'élimination dans les stations d'épurations, mais également des habitudes de consommation. En général les caractères hydrophiles et ionisables pour la majorité de ces composés limitent leur élimination et facilitent leur transport dans l'environnement. En effet, ils peuvent s'adsorber sur les matières en suspension, les colloïdes (substance dont la taille 0.001-1 μ m) et les matières organiques dissoutes et/ou subir par la suite les processus de transformation biotique, chimique et physico-chimique.

Bien que leur présence dans le milieu aquatique ait été bien documentée, les données concernant leur présence dans des échantillons solides sont encore rares. Les antibiotiques vétérinaires restent les composés pharmaceutiques les plus couramment étudiés dans ces matrices (Ternes et al., 2005; Turiel et al., 2006; Hernández et al., 2007).

1.3.1.1. Source

Après administration, les composés pharmaceutiques subissent un changement structural dans le corps (humain ou animal). Ils ne sont pas complètement métabolisés et seront donc par la suite excrétés en partie variable sous forme initiale ou métabolisé. Le taux d'excrétion est généralement fonction de la pharmacologie du composé et de mode d'application (orale, cutanée, etc.). On estime en moyenne que 42% (\pm 28%) est excrété sous forme de métabolites, alors que 64% (\pm 27%) est excrété par l'urine et 35% (\pm 26%) par les fèces (Lienert et al., 2007). En outre, ils finissent par retrouver leur chemin vers le milieu aquatique via les effluents de traitement des eaux usées.

En conséquence de l'élimination incomplète dans les stations d'épuration, le milieu aquatique reste exposé à une variété de voies d'introduction de produits pharmaceutiques dont le point commun est l'utilisation de ces composés dans la médecine humaine et vétérinaire. Dans le cas des médicaments vétérinaires, ceux-ci sont dispersés soit d'une façon directe dans les milieux aquatiques et terrestres suite à leur utilisation en aquaculture (Lalumera et al., 2004), ou indirectement via l'épandage des lisiers sur les sols agricoles. D'autres voies d'entrée potentielles possibles pour les composés pharmaceutiques dans l'environnement regroupent les effluents des industries pharmaceutiques, les hôpitaux ou la mauvaise élimination des produits inutilisés ou périmés (Joss et al., 2006; Kosjek et al., 2007).

Malheureusement, une grande quantité de médicaments prescrits ou en libre vente n'est pas consommée totalement et beaucoup d'entre eux sont encore éliminés dans les toilettes ou via les ordures ménagères.

1.3.1.2. Toxicité

Les produits pharmaceutiques sont par définition et par design, biologiquement actifs et sont conçus pour cibler des métabolismes spécifiques. Avec une introduction continue qui compense leur persistance, un nombre de ces composés est détecté dans l'environnement à des concentrations généralement de l'ordre de ng L^{-1} ou $\mu\text{g L}^{-1}$ (Barcelo, 2003), bien que la préoccupation n'est pas de leur toxicité aiguë qui semble peu probable sur les organismes aquatiques de milieux réceptrices à ces niveaux de concentration (Choi et al., 2008; Zhang et al., 2008). Souvent les effets aigus pour certains composés (anti-inflammatoires, régulateurs de lipides) sont été observés à des concentrations 100 à 1000 fois plus élevées que celles habituellement détectées dans les milieux aquatiques (Farré et al., 2008). Cependant, l'exposition des organismes sans relâche durant leur cycle de vie à des mélanges de ces composés, même à ces faibles concentrations, peut avoir un effet d'interaction (additif et synergique) sur les organismes aquatiques (Pomati et al., 2008; Quinn et al., 2009), et notamment pour les poissons. Concernant les antibiotiques, diverses études ont montré que leur présence peut avoir un effet sur la croissance bactérienne, la réduction des sulfates dans les sols et le développement de résistance (Halling-Sørensen et al., 2002; Dikeman, 2007).

1.3.2. Hormones stéroïdiennes

Les hormones stéroïdiennes sont un groupe de composés produits naturellement par les humains et les animaux et ciblent à accomplir une grande variété de fonctions physiologiques vitales, notamment la reproduction, la croissance, le métabolisme, la gestion du stress, etc... Les estrogènes (estradiol, estrone, estriol) constituent avec les androgènes (e.g progestérone), les progestagènes et les corticoïdes les principales classes d'hormones stéroïdiennes naturelles. En raison de l'importance de leur rôle dans plusieurs fonctions de l'organisme, elles sont utilisées en grande quantité en médecine humaine (par exemple pour la contraception) et en médecine vétérinaire. Plusieurs hormones synthétiques sont aussi produites et prescrites pour utilisation en thérapie de substitution hormonale, généralement l'utilisation de ces composés en médecine humaine ne sort pas du cadre de ces trois groupes principaux, la gestion de la ménopause, la thérapie de substitution physiologique en état de carence et en cas de traitement du cancer de la prostate et du sein.

En médecine vétérinaire, un grand nombre de substances naturelles et synthétiques a été utilisé dans l'élevage afin de stimuler et d'améliorer la croissance des animaux, et de diminuer les coûts d'alimentation (Dikeman, 2007). Le benzoate d'estradiol est l'un des stéroïdes les plus appliqués à des animaux d'élevage et les bovins sont les principales espèces pour lesquels le composé est utilisé (Anna, 2012). Parmi ces composés, l'estrone (E1), estradiol (E2), estriol (E3) et ethinylestradiol (EE2) ont reçu une attention accrue liée à leur capacité d'interférer avec le système endocrinien même à très faibles concentrations, ils sont reconnus comme les principaux contributeurs à l'activité oestrogénique observée dans les eaux usées et les eaux de surface (Rodgers-Gray et al., 2000).

Les hormones stéroïdes ont été détectées et quantifiées dans une large variété de milieux aquatiques, d'effluents industriels et municipaux, ainsi que le ruissellement urbain et agricole (Jobling et al., 1998; Larsson et al., 1999; Ternes et al., 1999; Körner et al., 2000; Loos et al., 2007). Les eaux usées sont la principale voie de transport de ces composés dans l'environnement et étant donné que ces composés sont fortement hydrophobes et assez peu volatils, la sorption sur la phase solide est susceptible d'être un processus central dans la compréhension du devenir environnemental des hormones en milieu aquatique. Cependant, il n'existe pas de consensus quant à son importance, bien que E1 et E2 soient relativement

solubles dans l'eau, une fraction significative peut être associée à des matières en suspension ou à des colloïdes dans le système de traitement, ce qui pourrait influencer leur dégradation et leur devenir environnemental (Huang et al., 2001).

1.3.2.1. Source

Les principales sources d'introduction des estrogènes dans l'environnement aquatique sont attribuées aux effluents municipaux et aux ruissellements urbains et agricoles (Layton et al., 2000; Jürgens et al., 2002). L'urine humaine est souvent citée comme la principale source d'œstrogènes naturels et synthétiques dans l'environnement aquatique (Jobling et al., 2005; Mes et al., 2005). Après administration, les hormones stéroïdiennes sont excrétées principalement via l'urine sous forme conjuguée (glucuro- ou sulfato-conjuguées). On estime en effet que 26 % du EE2 administré oralement est excrété dans les urines (Reed et al., 1972; Johnson et al., 2006). Leur présence dans le milieu aquatique est allouée à élimination incomplète dans les procédés de traitement des eaux usées. En général, leur élimination repose sur leur caractère lipophile qui est suffisamment grand pour permettre une élimination significative par sorption lors d'un traitement primaire de sédimentation-floculation, mais même la faible concentration résiduelle dans les effluents est capable d'exercer des effets majeurs sur le biote aquatique.

En outre, la sécrétion par les animaux de ferme représente une source potentielle de pollution de l'environnement. Les trois estrogènes naturels (E1, E2, E3) et leurs conjuguées sont les principaux composés sécrétés par les animaux de ferme. L'introduction en quantité significative dans les fumiers des animaux de ferme (bétails, moutons, porcs et volailles) et la présence dans leurs déchets constitue un risque lié à l'épandage agricole ou à l'infiltration dans les eaux de surface et les eaux souterraines. D'autres sources potentielles des estrogènes pourraient être possibles, d'une part le lessivage des champs fertilisés avec du fumier des animaux de ferme ou des champs irrigués avec des effluents d'eaux usées et d'autre part, les effluents de l'aquaculture ou les industries productrices de ces composés.

1.3.2.2. Toxicité

Connu pour leur capacité d'exercer un large éventail d'effets biologiques à faible concentration, les hormones stéroïdes appartiennent aux groupes des perturbateurs

endocriniens qui se caractérisent par la puissance ostrogénique très élevée par rapport aux autres perturbateurs endocriniens. Hanselman et al. ont rapporté qu'elles possèdent une puissance de 10000-100000 fois plus élevée que les autres perturbateurs exogènes (Hanselman et al., 2003). Parmi les principaux composés qui contribuent le plus à l'activité ostrogénique observée dans les effluents domestiques et les eaux réceptrices, on retrouve les hormones naturelles (estrone, 17 β -estradiol, estriol) et synthétiques (17 β - ethinylestradiol) (Rodgers-Gray et al., 2000; Labadie and Labadie, 2005; Auriol et al., 2006).

Même à des concentrations qui s'approchent de la limite de détection, les hormones peuvent provoquer des effets néfastes sur un grand nombre d'espèces aquatiques. À titre d'exemple, une concentration de 0.1 ng L⁻¹ de 17 β -ethinylestradiol peut induire à la production de vitellogénine chez les poissons (Purdom et al., 1994), alors que d'autres études ont relié la perturbation endocrinienne observée chez les espèces aquatiques à la présence d'hormones (Lange et al., 2001; Thorpe, 2001; van Aerle, 2002). D'autres effets sur les végétaux ont été rapportés dans la littérature, l'irrigation de la luzerne avec des eaux contenant des œstrogènes tels que E1 et E2 affecte la croissance des plantes (Shore et al., 1993).

Les êtres humains sont également touchés par les stéroïdes. L'exposition à EE2 a été lié à la développement du cancer de prostate (Hess-Wilson and Knudsen, 2006), E2 a également été liée à des maladies comme le cancer du sein et l'endométriose (Dizerega et al., 1980). Par ailleurs, les tendances actuelles de taux croissants de cancer et de troubles de fertilité sont en partie attribuées à la présence d'hormones stéroïdes (Colborn, 1993).

1.3.3. Pesticides

Bien que les molécules naturelles aux propriétés pesticides aient été utilisées tout au long de l'histoire dans l'agriculture, la fin de la deuxième guerre mondiale marque le début de l'utilisation des pesticides organiques à grande échelle. Le terme pesticide fait précisément référence à une large gamme de substances qui ne sont pas forcément tous des produits chimiques de synthèse, mais peuvent aussi être des micro-organismes ou même leurs composants. D'une manière générale la majorité des pesticides sont utilisés en agriculture, mais ils sont également utilisés dans d'autres applications industrielles. Leur application en

agriculture vise principalement la lutte contre la présence des organismes nuisibles, afin d'améliorer la qualité, la quantité et la diversité de l'approvisionnement alimentaire.

La classification des pesticides peut être réalisée sur la base de leur cible nuisible, des herbicides, des insecticides, fongicides et plusieurs autres, ou bien en fonction de la nature chimique de substances de base comme les organochlorés, les organophosphorés, les triazines et autres. Dans la pratique agricole, le devenir des pesticides dans l'environnement est influencé en grande partie par la distribution initiale décrite par les proportions réparties après l'application entre différents compartiments l'air, le sol, l'eau, les plantes, et les animaux. Cette distribution repose sur les propriétés physico-chimiques des pesticides, leur solubilité dans l'eau, leur tendance à s'adsorber sur les sols, ainsi que la persistance et la dégradation qui détermineront par la suite le sort de ses substances dans l'environnement.

L'utilisation extensive de pesticides conduit à de graves problèmes de contamination de l'environnement dans le monde entier. leur pénétration dans l'environnement se fait de plusieurs façons, malgré leur faible solubilité dans l'eau, certains pesticides sont détectés partout dans les milieux aquatiques, par la suite certains peuvent être bioaccumulés en raison de leur persistance et de leur caractère lipophile (Zhou et al., 2008). Via la chaîne alimentaire, ils peuvent aussi atteindre les êtres humains, et avoir des effets négatifs (Behrooz et al., 2009).

1.3.3.1 Source

Les voies d'introduction dans l'environnement sont multiples et en général sont reliées à leur application. Bien que la majorité des pesticides soient utilisés en milieu agricole, jusqu'à un tiers de l'utilisation des pesticides peut être à des fins non agricoles (Birkett and Lester, 2003). Dès leur application, les pesticides ont tendance à s'adsorber au sol ou d'être retenu par les plantes ou les organismes du sol. On estime qu'en moyenne 2% des pesticides appliqués au sol entrent dans les cours d'eau par le ruissellement agricole (Leonard, 1990; Schiavon et al., 1995). En raison de leur caractère semi-volatile, de 80% à 90% se dispersent dans l'air (Glotfelty et al., 1984; Taylor and Spencer, 1990) et intègrent le système aquatique via les précipitations de pluie et de neige et contaminent d'autres milieux plus éloignés. La

Table 1 ci-dessous résume les différents sous-groupes de pesticides, leurs usages, et leur source.

Table 1. Utilisation et source des pesticides (Birkett and Lester, 2003).

Pesticide	Utilisation	Source
Organochlorés	Utilisation agricole, industriel et domestique	Ruissellement et lixiviation, effluent industriel, effluent de station de traitement des eaux usées.
Pyréthri-noïdes	Les cultures arables	Ruissellement et lixiviation, rejets
Organophosphorés	Les cultures arables et	Ruissellement et lixiviation,
Carbamates	Les cultures arables	Ruissellement et lixiviation,
Triazines	Les cultures arables	Ruissellement et lixiviation,

1.3.3.2 Toxicité

De toute évidence, l'impact des pesticides sur l'environnement est très large et dépend d'un nombre de facteurs liés au degré d'exposition (dispersion, concentration résultante dans l'environnement) et des propriétés toxicologiques. L'impact direct sur les zones d'application peut se manifester par des effets très divers, par exemple, diminution ou disparition des microflore du sol (bactéries, algues, verre de terre, des insectes et autres) qui jouent un rôle essentiel dans le maintien de la fertilité des sols (Gerber et al., 1991). Par ailleurs, la mortalité des oiseaux dans les champs traités par des insecticides illustre l'impact indirect via la raréfaction de la ressource alimentaire (Jean-Noël et al., Décembre 2005).

Tout au long de la chaîne alimentaire, les impacts négatifs peuvent se manifester, la mort des mammifères est généralement la conséquence de l'ingestion des aliments contaminés, il en va de même pour certains prédateurs dont la baisse de fertilité a été observée (Ligue Française de Protection des Droits de l'Animal, 2002). À des niveaux de contamination inférieurs aux seuils de risque déterminés dans des systèmes artificiels, de nombreux pesticides sont considérés comme modérément toxiques pour les mammifères mais hautement toxiques pour les organismes aquatiques (United Nations Environment Programme, 2002; Donn et al., 2008).

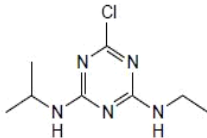
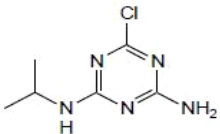
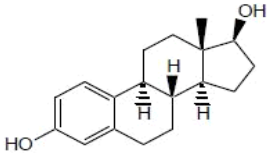
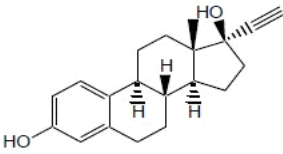
1.4. Sélection des contaminants émergents

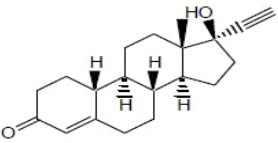
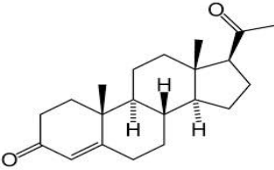
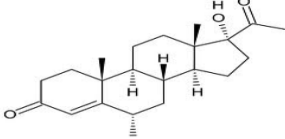
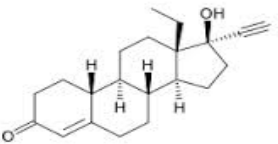
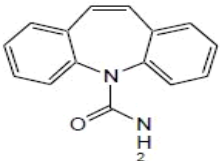
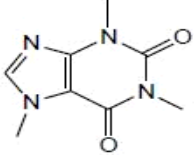
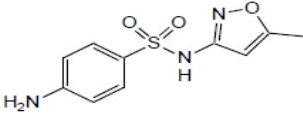
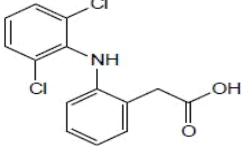
Devant la grande diversité des contaminants émergents dans l'environnement, et l'impossibilité de tous les étudier, ce projet vise un nombre restreint de molécules qui ont été

sélectionnées. Le choix des molécules s'est appuyé sur les propriétés physico-chimiques en prenant soin de représenter une certaine variété des contaminants émergents combiné avec les données de consommation et d'occurrence.

Douze molécules de trois classes différentes ont été ciblées incluant : pesticides, hormones et produits pharmaceutiques, au sein de ces différentes classes 2 à 6 composés pour chaque classe ont été sélectionnés. Les données de commercialisation constituent l'un des principaux critères de sélection ainsi que les données de toxicité et de persistance, le troisième critère est le manque de données de ces molécules dans les phases particulières. Les deux tables, Table 2 ci-dessous et table 3 (chapitre 7) se complètent pour présenter la liste des molécules sélectionnées et les propriétés physico-chimiques.

Table 2. Liste et structure chimique des composés sélectionnés.

		Composés	Catégorie	Structure
<u>Pesticides</u>	ATZ	Atrazine	Herbicide	
	DEA	Desethylatrazine	Herbicide	
<u>Estrogènes</u>	E2	Estradiol	Estrogène	
	EE 2	Ethinylestradiol	Synthétique estrogène	

		Composés	Catégorie	Structure
<u>Estrogènes</u>	NOR	Northindrone	Progestagènes synthétiques	
	PROG	Progestérone		
	MPROG	Medroxyprogestérone		
	LEVO	Levenorgestérone		
<u>Antiépileptique</u>	CBZ	Carbamazépine	Anticonvulsant	
<u>Stimulant nerveux</u>	CAF	Caféine	Stimulant	
<u>Antibiotique</u>	SMX	Sulfaméthoxazole	Antibiotic	
<u>Antiinflammatoire</u>	DCF	Diclofénac	Anti-inflammatoire	

Chapitre 2. Eau usée : composition et caractéristique

2.1 Les eaux usées

Les eaux usées représentent l'une des principales voies d'entrée des contaminants organiques et inorganiques dans l'environnement en raison de leur composition complexe et les exigences spécifiques pour leur traitement. Ainsi, la compréhension de la composition des eaux usées constitue une étape primordiale pour mieux comprendre les interactions entre les composés organiques et inorganiques, et permettre l'optimisation des performances des procédés de traitement dans les stations d'épuration.

Les eaux usées urbaines représentent un milieu particulièrement complexe dont les caractéristiques et la composition sont le reflet de son origine, pour chaque type d'eau usée ces caractéristiques sont liées à l'application de l'eau d'affluent. D'une manière générale, les affluents urbains regroupent des eaux usées domestiques, industrielles, ainsi que les eaux pluviales.

Les eaux domestiques proviennent essentiellement des activités humaines quotidiennes, dans lesquelles dominent les habitudes alimentaires et culturelles de la population. En revanche, elles sont constituées des eaux ménagères (eaux de lessive, des leviers, baignoires et de toilettes) et les eaux des vannes (matières fécales et urines). Un mélange de composés qui intègre diverses substances organiques (protéines, glucides, lipides, etc.), des microorganismes (bactéries, virus, protozoaires), des nutriments (azote et phosphore) et des composés inorganiques (chlorures, sulfates, etc.).

Les eaux industrielles sont très variées en termes de qualité et de quantité. Leurs caractéristiques diffèrent d'une industrie à l'autre; elles sont fortement dépendantes des procédés et modes opératoires de l'industrie; elles peuvent contenir des produits toxiques, des métaux traces et dans certain cas, elles sont prétraitées avant leur rejets vers les égouts.

Les eaux pluviales comprennent les eaux de ruissellement, d'arrosage et de pluie qui entraînent dans leur parcours toute sorte des débris de nature autant organique que minérale. Elles peuvent s'enrichir avec divers matières en suspension d'origine terrestres (terre, sable et

déchets végétaux) et également divers micropolluants (notamment des hydrocarbures, pesticides et détergents).

2.2. Caractéristiques des eaux usées

Les eaux usées municipales sont principalement composées d'eau (99,9%), la partie restante comprend généralement des matières en suspension dissoutes et solides d'origine minérale et organique, ainsi que des microorganismes. En terme de contamination présente dans les eaux usées, elle peut être présentée sous différentes formes, en fonction de sa nature (polluant organique et inorganique ou encore biologique ou liée à la température) ou même en fonction de la taille et la solubilité (dissous, particulaire ou colloïdale). En revanche, le traitement primaire des eaux usées se concentre sur la séparation des particules, la plupart des polluants dans les eaux usées sont de nature hydrophobe apolaire et ont tendance à s'adsorber sur la phase solide et exister sous forme particulaire ou colloïdale ou se transformer à cette forme au cours du processus de traitement (Birkett and Lester, 2003; Von Sperling, 2007).

Ce mélange de composition des eaux usées possède une variabilité de caractéristiques qui peuvent être représentées par un nombre de paramètres; certains sont suivis de façon plus assidue : les matières solides en suspension et dissoutes, les nutriments (azote et phosphore), ainsi que divers indicateurs de la matière organique, par exemple, la demande biochimique en oxygène (BOD), demande chimique en oxygène (COD) et le carbone organique total (COT).

2.3. Phase solide

Dans les eaux usées, de tous les contaminants présents excepté les gaz dissous, la phase solide contribue le plus dans les procédés de traitement municipaux (Von Sperling, 2007). La moitié de cette phase est sous forme organique, généralement sous forme d'un mélange de matières végétales et animales à différents stades de décomposition, de matières organiques synthétisés et de microorganismes. En général, La composition organique des eaux usées est d'environ 50% de protéines, 40 % de glucides, 10% de graisses et d'huile, et des traces de divers contaminants incluant des tensioactifs et divers contaminants émergents. Alors que la composition microbiologique des eaux usées domestiques contient souvent 10^5 - 10^8 unités formant colonie (CFU)/ml d'organismes coliformes, 10^3 - 10^4 CFU/ml de streptocoques fécaux, 10^1 - 10^3 kystes de protozoaires et 10^1 - 10^2 particules virales (Shon et al., 2006; Von Sperling,

2007). La fraction inorganique regroupe une variété de substances minérales provenant de sources domestique et industrielle, notamment les métaux, les sels minéraux qui représente la dureté et la teneur en minéraux de l'eau d'alimentation, ainsi que du sable, de gravier et de limon (Shon et al., 2006). D'une manière générale, la phase solide peut être classée en fonction de son état physique, de la taille des particules, de leur caractéristique chimique, et chaque classe peut inclure des fractions de matières solides organique et inorganique.

2.3.1. Classement par taille

La répartition de taille dans les eaux usées est très large dont les seuils entre les classes sont définies par des critères opérationnels. Traditionnellement, la filtration classique sur membrane poreuse est utilisée pour la séparation des fractions dissoutes (filtrables) et particulaires dans les échantillons environnementaux. Par convention, la partie qui traverse un filtre de taille spécifique (habituellement $0.45 \mu\text{m}$) correspond à la phase dissoute tandis que la phase retenue sur le filtre représente généralement la phase particulaire. Selon Buffle et al, cette méthode permet de définir la répartition de taille des particules d'une manière discrète (Buffle et al., 1992). Elle a été rapportée dans plusieurs études pour la caractérisation de taille des particules dans différents milieux aquatiques, eaux de rivières et de lacs (Oikari and Kukkonen, 1990; Peuravuori and Pihlaja, 1997; Guo et al., 2003) et dans les eaux usées (Vaillant et al., 1999).

Les constituants majeurs de la fraction dissoute sont généralement des fragments de cellules et de macromolécules alors que la fraction particulaire qui est généralement issue de la décomposition d'animaux et végétaux et des microorganismes (Santos et al., 2004), de déchets microbiens ainsi que divers autres débris. À cet apport naturel, il faut ajouter un mélange de matériaux solides d'origine anthropique. Selon Wilkinson et Lead, la répartition de tailles est définie par trois familles de taille utilisées pour décrire la distribution des différents types de colloïdes et particules dans l'environnement (Wilkinson and Lead, 2007).

- ✓ Soluble ($<0.001 \mu\text{m}$)
- ✓ Colloïdal ($0.001-1 \mu\text{m}$)
- ✓ Particulaire ($> 1 \mu\text{m}$)

Ces matières obéissent à des lois de transport différentes et jouent un rôle important dans le transport et le devenir des contaminants dans le milieu aquatique (comme les métaux, les composés organiques et les nutriments) ainsi que dans la conversion biologique. Ils ont la capacité d'influencer les phénomènes comme le transfert de masse, l'adsorption, la diffusion et les réactions biochimiques selon la distribution de leur taille (Santos et al., 2004). Leur présence a un impact considérable sur les procédés de séparation, sédimentation, floculation et filtration et contribue à l'élimination des composés organiques via le phénomène d'adsorption. Cette contribution est largement influencée par plusieurs paramètres comme le pH, la température et la charge.

2.3.2. Matière organique

La matière organique est généralement constituée d'une combinaison de carbone, hydrogène, oxygène et d'azote et dans certain cas on retrouve d'autres éléments importants tels que le soufre, le phosphore et le fer. La présence de la matière organique dans les eaux usées peut se présumer en fonction de son origine dans trois grandes catégories :

- La matière organique naturelle (MON) provenant de la dégradation des débris et résidus animaux et végétaux ainsi que la production primaire des microorganismes.
- Les composés organiques synthétiques produits lors d'un usage domestique ou industriel.
- Les sous-produits de désinfection générés lors des procédés de traitement des eaux usées.
- Les produits microbiologiques solubles générés au cours d'un traitement biologique.

La quantification de la MO dans le milieu aquatique se fait par la mesure de carbone organique, le carbone organique total (COT) dans le cas d'échantillons liquide brut, le carbone organique particulaire (COP) et le carbone organique dissous (COD). L'état dynamique de la matière organique est très instable étant donné l'ensemble de cycles de synthèse biologique, de métabolisation et de décomposition qu'elle subit.

La présence de matière organique peut constituer dans certain cas un élément positif dans l'optimisation des procédés de traitement des eaux usées. En effet, l'affinité entre la matière organique et les contaminants (métaux et composés organiques) tendent vers la

diminution de la biodisponibilité de ces contaminants. Dans des études réalisées sur les eaux usées, on rapporte que les contaminants sont un mélange de constituants sous forme particulaire et dissous dont la taille varie de 0.001 μm à plus 100 μm (Painter, 1973; Levine et al., 1985). Selon Levine et al., les polysaccharides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques représentent les principales macromolécules présentes dans le traitement biologique (Levine et al., 1985). Depuis les années cinquante, plusieurs auteurs (Balmat, 1957; Heukelekian et Balmat, 1959; Richert et Hunter, 1971; Munch et al, 1980) ont étudié le fractionnement des contaminants dans les eaux usées entre différentes classes de taille de biodégradabilité variable. Selon ces auteurs, environ 25% de la matière organique était sous forme soluble alors que 15% de sous forme colloïdale, environ 25% supracolloïdal et environ 35% des particules étaient décantables(Balmat, 1957; Heukelekian and Balmat, 1959; Rickert and Hunter, 1971; Munch et al., 1990).

Ødegaard (1992) a signalé que la fraction dissoute dans un échantillon d'eau brute est d'environ 20-30% organique, contenant de 30-40% du phosphate total et 75-85% de l'azote total, et que pour les contaminants, comme les micropolluants organiques et inorganiques, les éléments traces ainsi que les BPC et les HAP sont fortement associées à ces particules (Ødegaard, 1992; Shang et al., 1999). Dans d'autres études, la présence de plusieurs micropolluants organiques a été confirmée, incluant les perturbateurs endocriniens (EDCs), les produits pharmaceutiques et les produits de soins personnels (PPCPs) (Halling-Sørensen et al., 1998; Daughton and Ternes, 1999; Snyder et al., 1999; Vanderford et al., 2003). De nombreuses études ont démontré que la matière organique est un facteur important dans la compréhension du comportement des contaminants (transport, dégradation, biodisponibilité et toxicité) dans les stations d'épuration et dans l'environnement. Les informations de base sur les caractéristiques spécifiques de la matière organique sont cruciales pour l'amélioration des technologies de traitement des eaux usées.

Chapitre 3. Échantillonnage et préparation des échantillons

3.1. Les procédures d'échantillonnage

L'analyse des échantillons est souvent une procédure compliquée impliquant de nombreuses étapes, qui commence par le prélèvement, le stockage pour permettre le transport et la conservation jusqu'à l'analyse, souvent la validation de ces étapes sont négligées lors des études de contaminants émergents, alors que toute erreur à ce stade demeure incorrigible rendu à l'analyse en laboratoire (Yasin et al., 1996; Zhang et al., 2009). La collecte d'un échantillon représentatif est l'une des étapes les plus importantes de toute l'analyse et d'autant plus problématique lorsqu'on travaille avec des échantillons hétérogènes. De façon générale, trois modèles d'échantillonnage sont connus: l'échantillonnage ponctuel, l'échantillonnage moyen ou composite et l'échantillonnage passif.

Toutefois, pour des matrices aqueuses, l'échantillonnage ponctuel consiste à un prélèvement unique à un seul moment et un seul endroit; ce qui n'est pas nécessairement représentatif de la variabilité potentielle, Lindbergh et al, ont démontré que pour le niveau de contamination d'effluents hospitaliers était très variable suivant le moment de la journée (Lindberg et al., 2004). Ainsi, un nombre relativement important d'échantillons pourrait devoir être prélevé à différents emplacements si on veut bien intégrer la variabilité géographique et temporelle de l'échantillonnage (Namieśnik et al., 2005). En effet, une bonne alternative pour surmonter les problèmes de représentativité d'un échantillonnage ponctuel pourrait être l'échantillonnage composite, un nombre relativement important de prélèvements est effectué à partir d'un endroit tout au long de la durée de l'échantillonnage ou à différents endroits au même moment, ces prélèvements sont mélangés et constituent l'échantillon composite qui sera analysé par la suite.

Dans l'échantillonnage passif, un échantillonneur est exposé à la concentration de la substance recherchée dans le milieu à étudier. La durée d'exposition peut atteindre plusieurs semaines, ce qui permet à l'échantillonneur d'intégrer en moyenne normalisée des variations accidentelles ou les extrêmes des concentrations des polluants (Namieśnik et al., 2005).

Plusieurs problèmes d'échantillonnage sont réduits au minimum par l'utilisation d'échantillonneur passif (Kot et al., 2000; El Shenawy, 2010), l'application de l'échantillonneur passif à des matrices eaux, sols et les sédiments est encore dans la plupart des cas limitée à des fins de recherche. Bien que dans les milieux aqueux leur application est limitée pour la détermination de certains polluants organiques et des pesticides, leur application dans les phases aqueuses et gazeuses est en constante augmentation (Kot et al., 2000; Namieśnik et al., 2005).

3.2. Stockage des échantillons

Pour les contaminants à des concentrations d'ultra-traces, presque toutes les surfaces qui entrent en contact avec l'échantillon constituent une source possible de contamination, plusieurs processus physiques, chimiques et biologiques peuvent avoir lieu entre le moment de prélèvement et l'analyse (adsorption, vaporisation, hydrolyse, photolyse et dégradation) et peuvent affecter la concentration réelle des contaminants.

Parmi les effets physiques de perte des composés à analyser, l'adsorption ou le relargage par les parois du récipient, le type et le matériel de stockage est à évaluer. Quatre types de matériaux sont généralement utilisés pour contenir les échantillons environnementaux: le verre (silanisé et non-silanisé), le polypropylène, le polytétrafluoroéthylène (Téflon ou PTFE) et dans certain cas l'acier. Le verre est généralement le matériau utilisé pour la collecte de la majorité des échantillons destinés aux analyse de contaminants organiques, particulièrement le verre ambré qui présente les avantages d'être inerte et réutilisable et permettant de minimiser la dégradation par les UV. Parmi les récipients utilisés dans la littérature on retrouve le verre silanisé (Ahrer et al., 2001; Hilton and Thomas, 2003; Vanderford et al., 2003), le verre non silanisé (Boyd et al., 2003; Miao and Metcalfe, 2003; Göbel et al., 2004), les bouteilles en verre ambré et en verre (Öllers et al., 2001; Calamari et al., 2003) ainsi que le polyéthylène haute densité (HDPE) (Huang and Sedlak, 2001; Pozo et al., 2006).

3.3 Conservation des échantillons

La stabilité de l'échantillon jusqu'à l'analyse devient plus problématique à des concentrations de l'ordre de ng L^{-1} et $\mu\text{g L}^{-1}$, typiquement une approche pratique d'évaluation de la stabilité de l'échantillon dans différentes conditions peut être effectuée pour déterminer les conditions optimales de la conservation des échantillons dans le temps. En effet, plusieurs techniques sont utilisées pour la conservation des échantillons: le refroidissement ou la congélation, l'ajout d'un agent de préservation, la filtration, le séchage ou la lyophilisation et dans plusieurs cas, la combinaison de ces différentes techniques (Hamscher et al., 2002; Kasprzyk-Hordern et al., 2007; Catastini et al., 2008; Nieto et al., 2010).

Habituellement, l'inhibition ou la réduction de l'activité biologique peut être assurée par la conservation à basse température et le maintien dans l'obscurité dès la collecte de l'échantillon et jusqu'à l'analyse. Il a été démontré que la conservation des échantillons de sédiments à 3°C montre une dégradation partielle, cependant ils ont été stables au moins une semaine lorsque congelés (Casas et al., 2007). Dans une autre étude, des algues et de bactéries peuvent être suffisamment éliminées par simple filtration (Wilson, 1976), alors que généralement dans la littérature un certain nombre d'agents de conservation sont souvent utilisées pour minimiser la dégradation microbienne des analytes cibles pendant le stockage des échantillons, l'acide ascorbique (Vanderford and Snyder, 2006), le thiosulfate de sodium (Renew and Huang, 2004; U.S. Environmental Protection Agency, 2007), le sulfite de sodium (Smith et al., 2008), le chlorure d'ammonium (Dodd and Huang, 2004), et l'azoture de sodium (Holbrook et al., 2004; Kim et al., 2005). Dans certain cas, la combinaison entre les différents techniques s'avère nécessaire, le formaldéhyde (1% v/v) est parfois utilisé comme agent de conservation en combinaison avec la réfrigération pour des échantillons d'affluent et d'effluent, d'autre part des échantillons de boues sans conservation autre que le séchage à l'air une fois au laboratoire sont aussi utilisé (Weng et al., 1998).

3.4 Prétraitement des échantillons

Avant de mettre en œuvre une stratégie d'analyse, le prétraitement de l'échantillon constitue la première étape de manipulation de l'échantillon, fortement dépendant de la nature de la matrice de l'échantillon et de la concentration des substances recherchées. Le

prétraitement peut être réalisé immédiatement après la collecte de l'échantillon ou après la conservation et juste avant l'analyse comme tel. Dans le cas d'échantillons hétérogènes, la séparation entre les phases constitue une étape primordiale de prétraitement de l'échantillon, différentes techniques sont employées selon la nature de l'échantillon pour la séparation des phases dans les échantillons environnementaux, filtration, tamisage, centrifugation et lyophilisation. Habituellement pour des échantillons aqueux l'enlèvement des matières solides est relativement important, leur présence pourrait influencer l'étape de l'extraction ou les étapes ultérieures. Cependant, il faut prendre soin qu'il n'y ait pas de pertes d'échantillons en raison de l'adsorption des analytes sur la matière solide qui est retirée. En outre on peut utiliser la centrifugation pour éliminer la matière insoluble à partir de solution. La filtration des échantillons préalablement à leur extraction permet de minimiser la présence de matière solides organiques et inorganiques ce qui pourrait ainsi éviter ou limiter le colmatage des cartouches SPE (Steen et al., 1999; Díaz-Cruz and Barceló, 2005; Farré et al., 2008). Deuxièmement, la filtration classique aide à la conservation des échantillons en supprimant certaines bactéries et autres microorganismes. Troisièmement, elle constitue un standard de comparaison des résultats des différentes études étant donné qu'elle est la technique la plus largement utilisée par les chercheurs en chimie environnementale (Smith, 2003).

Différents types de filtre peuvent être utilisés incluant notamment: papier, fibre de verre, l'acétate de cellulose et le nylon (Hernando et al., 2004; Gros et al., 2006; Segura et al., 2007) ainsi que diverses porosités de filtres qui sont rapportées dans les études et qui varient habituellement entre 0.22 μm et 8 μm (Morrison, 2001). Afin de surmonter le problème de colmatage des filtres et faciliter la filtration pour certains échantillons particulièrement chargés (comme les effluents des stations d'épuration), une centrifugation peut être préalablement recommandée (Bendz et al., 2005; Cha et al., 2006).

Dans le cas des échantillons solides ou semi-solides, l'élimination de l'eau avant l'extraction a été jugée essentielle pour obtenir un bon recouvrement. La lyophilisation est une technique acceptée et couramment utilisée pour le séchage des matrices solides, cependant les niveaux d'affectation des composés cibles sont inconnus, en particulier pour ceux qui sont relativement volatils (Petrović et al., 2001). Dans certaines études la lyophilisation est remplacée par la centrifugation et généralement la phase solide obtenue suite à la

centrifugation ou à la lyophilisation est séchée pour éliminer toute traces d'eau (Shang et al., 1999; Jelić et al., 2009; Nieto et al., 2010; Yang et al., 2010), la température de séchage peut varier selon les composés étudiés de 60 à 100°C (Hanselman et al., 2003; Jacobsen et al., 2004). Une étape de broyage et tamisage peuvent être ajoutée au prétraitement des matrices solide après séchage de la matrice dans le but de rendre l'échantillon plus homogène en taille des particules et de retirer les particules de grosses tailles (Jacobsen et al., 2004; Martínez-Carballo et al., 2007; Nieto et al., 2010) .

3.5 Préparation des échantillons

L'analyse des micropolluants dans l'environnement constitue une tâche difficile. La plupart des instruments d'analyse sont incapables de gérer directement les matrices environnementales naturelles. En effet, le traitement des échantillons est une étape souvent utile dans la procédure analytique, certaines formes de traitement comprennent diverses étapes, extraction, purification et évaporation, et selon la méthode d'analyse ex, : biologiques ou chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS), chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse (LC -MS), l'hydrolyse et la dérivation sont souvent nécessaires (Chen et al., 2008). La préparation de l'échantillon consiste à convertir la matrice réelle de l'échantillon à un format convenable pour surmonter les limitations du système de détection. En revanche, cette transformation peut avoir un impact direct sur la précision et les limites de quantification de la méthode et est souvent déterminante sur la durée et l'effort requis pour réaliser l'analyse.

En résumé, un nombre d'objectifs communs de traitement des échantillons se résume dans l'élimination des interférents potentiels, l'isolement et la concentration des analytes d'intérêt et de fournir un procédé fiable et reproductible indépendant de la variation dans la matrice de l'échantillon. Les approches couramment utilisées pour la préparation des échantillons reposent donc sur des méthodes d'extraction et de préconcentration. La partie qui suit, contient une brève description des techniques les plus utilisées, pour les matrices aqueuses et solides.

Chapitre 4. Techniques d'extraction et d'analyses

4.1. L'analyse des polluants émergents

4.1.1 Échantillons aqueux

Généralement pour des matrices aqueuses, l'extraction, la concentration des composés émergents organiques et la purification des interférents de la matrice sont des étapes déterminantes dans l'analyse à de l'état trace des analytes d'intérêt. Différentes techniques sont disponibles et souvent elles combinent les étapes d'enrichissement et de nettoyage. L'une des approches les plus utilisées pour l'extraction de l'analyte cible est le nettoyage et la concentration par utilisation d'une extraction en phase solide (SPE-Solid phase extraction). Cette technique présente l'avantage d'être rapide économique et automatisable (Wells, 1986; Fritz and Macka, 2000).

Même si l'extraction liquide-liquide est encore utilisée. D'autres techniques modernes rapportées dans les littératures permettent l'extraction des analytes des matrices aqueuses telles que la microextraction en phase solide (McClure and Wong, 2007) ainsi que la microextraction sur barreau (Brossa et al., 2005). Seule l'extraction en phase solide est décrite dans les paragraphes suivants.

4.1.2 Échantillons solides

Par rapport aux matrices aqueuses, les matrices solides telles que les particules en suspension, les sédiments, les sols et les boues représentent une complexité accrue. En effet, de la grande variété des composés organiques et inorganiques qui sont contenues, les interactions de la matrice sont assez complexes, un grand nombre d'interactions chimique et physique sont possibles entre les analytes d'intérêt et la matrice et complique l'extraction.

Le processus d'extraction peut être amélioré et accéléré par l'introduction d'un chauffage ou par agitation de l'échantillon (dans l'extraction liquide sous pression et par extraction assistée par micro-ondes) ou en utilisant un autre solvant, qui a un taux plus élevé de diffusion (comme dans l'extraction par fluide supercritique et l'extraction de l'eau surchauffée). Dans ce contexte, les méthodes les plus fréquemment utilisées comme équivalent de l'extraction par Soxhlet sont

basées sur l'utilisation d'ultrasons, agitation mécanique ou magnétique et sur une combinaison de deux d'entre eux.

Pour extraire les analytes d'intérêt des matrices solides, plusieurs méthodes sont disponibles, l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) (Castiglioni et al., 2005), l'extraction assistée par ultrasons (UAE) (Hu et al., 2010), ou l'extraction par liquide pressurisé (PLE) encore appelée extraction accélérée par solvant (ASE). L'extraction par Soxhlet est l'une des techniques d'extraction de référence pour l'évaluation des procédures conventionnelles basées sur d'autres principes (Esteve-Turrillas et al., 2004; Amelung et al., 2007; Lambropoulou and Lambropoulou, 2007; Prada et al., 2010). Une fois la procédure d'extraction achevée, une étape de nettoyage comme celle qui est décrite ci-dessus est souvent effectuée dans le but de nettoyer l'extrait avant l'analyse instrumentale.

4.2. Techniques utilisées

4.2.1. L'extraction en phase solide

L'extraction en phase solide (SPE) est l'une des techniques de choix pour l'extraction des analytes dans les matrices complexes. Grâce à son facteur de concentration, la SPE permet l'analyse à des concentrations de l'ordre de ng L^{-1} dans des matrices complexes. Cette technique est excellente pour l'extraction, la concentration et le nettoyage. Elle repose sur l'affinité entre les analytes cibles et la phase solide absorbante et peut être également utilisée pour le changement de solvant ou la purification des échantillons.

Par rapport au LLE, la SPE est plus efficace, elle permet de meilleurs taux de récupération, elle consomme moins de solvant et elle peut être effectuée manuellement (off-line) ou automatisée (on-line) grâce au système de chromatographie liquide (Berrueta et al., 1995). La SPE est réalisée en quatre étapes, conditionnement, chargement, lavage et élution. Pour effectuer une SPE, deux paramètres sont à définir avant de la mise en œuvre, la nature de la phase stationnaire et les solvants d'extraction. On considère les propriétés physico-chimiques des analytes (K_{ow} , pK_a et la solubilité) pour le choix des cartouches les plus appropriées. En SPE, plusieurs phases stationnaires peuvent être utilisées, allant des mélanges de différents polymères (tels que divinylbenzène-vinylpyrrolidone) à octadecylsilica (C18) ou

des matériaux plus sélectif, tels que les molécules immunosorbantes, des polymères imprimés (MIPs) et des matériaux à accès restreint (RAMs).

La cartouche de type hydrophile-lipophile balance (*Hydrophilic-lipophilic balance*) Oasis[®] HLB est la plus utilisée pour des analyses multi-résidus dans des matrices complexes. Dans une étude sur les méthodologies analytiques dédiées au dosage des antibiotiques dans l'environnement, Seifrtova et al. ont mis en évidence la forte utilisation de cette phase (Seifrtová et al., 2009). D'autres cartouches sont recommandées dans le cas d'analyse d'un large éventail de composés avec différentes propriétés physico-chimiques, sorbant polymérique ou Strata C18. L'utilisation de ces cartouches a été également rapportée dans de multiples études, StrataX[®] 124 (Vulliet et al., 2007), de disques en silice greffée C18 (Mouatassim-Souali et al., 2003; Noppe et al., 2005) ou styrène-divinylbenzène (Alda and Barceló, 2001).

En plus de ces multiples avantages, la SPE peut être automatisée en ligne avec des systèmes tels que la LC. Cette approche a été appliquée avec succès à l'analyse des pesticides, des œstrogènes et des progestatifs dans des échantillons d'eau (Lacorte and Barceló, 1996; Steen et al., 1999). Le couplage on-line de SPE et SPME avec GC représente une autre approche prometteuse pour ce genre d'analyses (Slobodník et al., 1996; Slobodník et al., 1999).

4.2.2 Extraction par ultrasons

L'extraction par ultrasons (*ultrasound-assisted extraction UAE*) est une approche simple et relativement moins coûteuse, souvent appliquée pour des échantillons environnementaux solides. Son fonctionnement est aussi très simple, les dispositifs généraux sont un bain d'ultrasons ou une sonde d'ultrasons, l'échantillon est immergé dans un solvant organique et traité par ultrasons. Cette approche permet de faciliter la désorption des analytes et la diffusion vers le solvant organique. L'échantillon est habituellement extrait à plusieurs reprises avec une agitation vigoureuse et une ultrasonication pendant quelques minutes. La suspension résultante est centrifugée et la phase organique surnageante est recueillie et réduite par évaporation. Bien que la consommation de solvant dans cette technique soit faible par rapport aux méthodes conventionnelles, une étape de concentration et purification est souvent essentielle.

L'efficacité de l'extraction assistée par ultrasons dépend de plusieurs paramètres dont le temps de sonication. Le taux moyen de recouvrement augmente avec la durée d'extraction, en revanche après les premières 30 min d'extraction l'augmentation ne semble plus significative et il y a un risque de ré-adsorption des analytes sur la matrice, plus spécialement pour les extraction très longue (Ali and Baugh, 2003). Plusieurs extractions successives sont souvent nécessaires pour l'optimisation du rendement de l'extraction, en outre la combinaison de l'application d'ultrasons avec d'autre approches comme les micro-ondes a montré une excellente efficacité en terme de rendement et de temps, avec une réduction parfois jusqu'à un facteur dix par rapport aux procédés conventionnels et une augmentation de rendement de 50% à 500 % (Cravotto et al., 2008). Diverses méthodes reposent sur cette technique dans la littérature pour l'extraction des antibiotiques et des œstrogènes dans le fumier, des antibiotiques dans les sols (Loke et al., 2000; Boxall et al., 2002; Haller et al., 2002; Pfeifer et al., 2002; Blackwell et al., 2004), divers produits pharmaceutiques dans les sédiments fluviaux (Löffler and Ternes, 2003), ainsi que des œstrogènes dans les boues et des sédiments (Ternes et al., 2002b).

4.3 Méthodes analytiques

La présence de contaminants émergents dans l'environnement exige leur identification et quantification dans les différents milieux aqueux et solides. Les méthodes d'analyse des contaminants émergents ont connu des progrès remarquables et ont fait l'objet de plusieurs études au fil du temps, à la fois en termes de développement technologique et de l'application. De nos jours, la détermination des concentrations de contaminants est effectuée à l'ordre de ng L^{-1} et $\mu\text{g L}^{-1}$ dans des matrices complexes, qui peuvent contenir de nombreux composés qui peuvent interférer avec l'analyte et présenter un défi analytique important. Par conséquence, les techniques analytiques doivent être spécifiques pour la détection des composés d'intérêt parmi une grande diversité de composés co-extraits de la matrice et assez sensibles pour la quantification de ces composés d'une manière précise.

Le défi de la détection de ces contaminants d'une façon précise dans les échantillons complexes ne se présume pas dans la technique de quantification mais le dépasse à des étapes antérieures qui comprennent les méthodes d'extraction et de nettoyage et pour certains

composés à la concentration, dérivation et séparation. Les principales méthodes couramment utilisées dans la littérature pour la quantification des contaminants émergents dans les différentes matrices reposent sur les méthodes chromatographiques en phase gazeuse GC et en phase liquide LC, Le choix entre les deux est surtout en fonction des propriétés physico-chimiques des composés ciblés.

De nos jours, le nombre de méthodes d'analyse disponibles est en augmentation; un grand nombre des contaminants émergents sont détectés dans différents milieux environnementaux à l'état de traces, mais beaucoup de développements restent à accomplir plus particulièrement pour les matrices complexes et les méthodes multi-résidus.

4.3.1 Systèmes de détection

Le type de détecteur utilisé avec le système GC ou LC dépend essentiellement du composé à déterminer, toutefois, en raison de faible niveau de contamination des échantillons environnementaux et la complexité des matrices, les détecteurs doivent particulièrement être sensibles et spécifiques. Le détecteur à capture d'électrons (ECD), le photomètre de flamme (FPD), le détecteur azote phosphate (NPD) sont souvent utilisés avec la GC, alors que pour le système LC, les détecteurs spectroscopique exige la présence d'un chromophore dans la structure du composé à analyser ou son introduction par dérivation. Les détecteur à fluorescence et ultraviolet sont les plus fréquemment utilisés.

La spectrométrie de masse (MS) ou MS-MS se définissent comme les détecteurs de choix pour les échantillons environnementaux, en particulier MS-MS qui présente une plus grande sensibilité et sélectivité. Quel que soit la technique séparative choisie (LC ou GC), trois analyseurs sont couramment employés pour les analyses environnementales : le quadrupôle (Q), le temps de vol (TOF) et la trappe à ions (IT). Dans les couplages MS-MS, le triple quadrupôle (QqQ) est l'outil le plus populaire dans la détermination analytique en raison de la grande variété de mode et de fonction de balayage, *Fragment ion scan*, *Precursor ion scan*, *Neutral ion scan* et le mode *Multiple Reaction Monitoring* (MRM). Bien que la sensibilité, la sélectivité et l'efficacité de l'approche MRM soient excellentes pour l'obtention d'informations qualitatives, le LC-MS/MS est surtout appliqué à la détermination des analytes en utilisant le mode balayage sélectif d'ion fragments SRM (*Selected Reaction Monitoring*) en atteignant des limites de détection de l'ordre de ng L^{-1} (Petrovic et al., 2007).

D'autres systèmes MS hybride sont souvent utilisés comme QqTOF ou QqLIT. L'acceptation de QqTOF-MS dans l'analyse environnementale au cours des dernières années a été considérablement améliorée, et le nombre de méthodes rapportées dans la littérature est en augmentation constante (Petrovic et al., 2007).

4.3.2 Sources d'ionisation

Pour la quantification des composés, l'ionisation doit avoir lieu avant leur entrée dans le spectromètre de masse, les interfaces entre le système de séparation et le système de détection sont très importants pour déterminer le degré d'ionisation. Aujourd'hui, les interfaces d'ionisation les plus utilisés pour l'analyse des stéroïdes, des médicaments et des tensioactifs et des polluants organiques dans les milieux environnementaux, sont l'électronébulisation (*electrospray-ESI*) et l'ionisation chimique à pression atmosphérique (*atmospheric pressure chemical ionization - APCI*).

Les deux modes d'ionisation peuvent être exploités en mode positifs et négatifs. Souvent, le choix de ces deux modes d'ionisation positive ou négative peut avoir un impact significatif sur l'intensité du signal (Reemtsma, 2003). Une sélection appropriée pour un analyte donné peut être faite en considérant qu'ESI est un processus d'ionisation douce qui transforme les ions, majoritairement préformés dans la solution en ions en phase gazeuse, alors que l'APCI se produit essentiellement en phase gazeuse. En règle générale, les analytes qui produisent des ions en solution peuvent être mieux analysés par ESI, tandis que les analytes non-ioniques peuvent être bien adaptés à l'APCI. En effet, l'ESI est particulièrement bien adaptée pour l'analyse de composés polaires alors que les APCI est réputé très efficace pour l'analyse des substances à moyenne ou faible polarité.

Récemment, une troisième interface d'ionisation a été développée, l'APPI pour photo-ionisation à pression atmosphérique (Raffaelli and Saba, 2003; Hanold et al., 2004). En APPI, on a modifié une source APCI, dans laquelle la corona est remplacée par une lampe à décharge qui induit à l'ionisation par irradiation par rayonnement UV intense. L'APPI constitue une technique complémentaire à l'APCI significative pour les composés de faible polarité ou non polaires (Zwiener and Frimmel, 2004)

Chapitre 5. LDTD-APCI couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)

La désorption thermique induite par diode laser (LDTD) est une approche novatrice pour réaliser l'introduction d'échantillons développée et commercialisée par Phytronix Technologies Inc dans le but d'offrir des performances similaires à LC-MS/MS tout en répondant à la nécessité d'en arriver à un volume d'échantillonnage et d'analyse plus élevée dans un délai plus court. Cette technologie est basée sur la désorption thermique rapide à la diode laser d'échantillons secs, couplée à l'ionisation chimique sous pression atmosphérique. Cette interface permet l'introduction directe des analytes ionisés dans le spectromètre de masse en tandem (MS/MS). Contrairement à la LC-MS, la LDTD-APCI est conçue de manière à surmonter certaines contraintes des systèmes basés sur une séparation chromatographique en termes de reproductivité. La LDTD augmente la vitesse d'analyse des composés de 20 à 100 fois par rapport aux techniques établies basées sur la chromatographie liquide et spectrométrie de masse. L'analyse complète d'un échantillon peut se faire en moins de 10 secondes, avec un petit volume d'échantillon et moins de sources de contamination (tubes, colonne, solvants...). En effet l'interface fonctionne sans phase mobile liquide, les échantillons sont séchés sur une surface métallique et sont ensuite thermiquement désorbés indirectement par la chaleur générée par la diode laser. Un gaz vecteur entraîne ensuite les molécules neutres vers la source d'ionisation (aiguille corona de type APCI) et les ions générés sont entraînés sous l'effet de vide dans le MS. Dans son concept, l'interface est formée de trois parties majeures : un échantillonneur, l'interface de désorption thermique et une source d'ionisation APCI.

5.1. Échantillonneur

En pratique, la LDTD est compatible avec tous les procédés de traitements d'échantillons et d'extraction classiques comme l'extraction liquide-liquide, l'extraction en phase solide (SPE). Certains ajustements mineurs peuvent être effectués en analyse LDTD dans le but de réduire la teneur en matrice non volatile dans l'extrait final et une dilution de ce dernier peut être nécessaire.

Le support d'échantillon s'agit d'une plaque en polypropylène qui contient 96 puits. Dans le fond des puits, une feuille d'alliage d'acier inoxydable assure la transmission de chaleur. Un faible volume (2-10 μL) de mélange des analytes solubilisés dans un solvant sélectionné est déposé au fond des puits, la géométrie des puits est conçue de manière à optimiser l'irradiation dans la zone centrale pour que les analytes soient concentrés au centre. Après évaporation à l'air libre ou à faible température, une mince couche d'analyte est formée sur la surface métallique. Le support est ensuite installé dans une cage mobile sur l'axe X-Y qui permet de déplacer la plaque et de positionner l'arrière de puits face à la diode laser.

5.2. Source de désorption thermique

LDTD est muni d'une diode laser infrarouge (980 nm, 20 W). Une fois le support installé dans la source, la diode laser émet un faisceau laser infrarouge qui est focalisé à l'arrière du puits en une courte durée (typiquement 1-3 secondes), la couche mince d'acier du fond de puits assure l'absorption et la transmission de l'énergie thermique reçue vers les échantillons déposés au fond des puits sans aucun contact direct entre les analytes et les photons infrarouges du laser. En effet, la désorption thermique des analytes dans la phase gazeuse est apparentée à une sublimation, se produisant à une température inférieure au point de fusion habituellement rapportés. Les analytes évaporés sont entraînés vers la source d'ionisation par un flux de gaz à 3 L/min (qui agissent comme un tampon de chaleur) à travers un tube de transfert de quartz adossé au puits contenant l'échantillon à analyser. Les phénomènes de fragmentation thermique qui pourraient avoir lieu avant l'ionisation sont minimisés parce que l'énergie interne des analytes est dissipée par l'intermédiaire des collisions élastiques avec les molécules du gaz vecteur, pour finalement atteindre la région d'ionisation corona en APCI, avant d'être transférés à l'entrée du MS. La **Figure 1** ci-dessous représente le schéma du fonctionnement du LDTD.

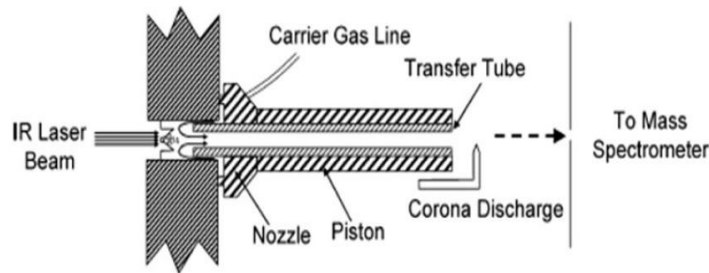


Figure 1. Schéma du fonctionnement de l'interface LDTD (Phytronix Technologies Inc, 2013) .

Lors du fonctionnement, le contrôle et la mise en marche de la diode laser infrarouge est régie par un nombre de paramètres: la puissance maximale de l'intensité laser, le taux d'élévation de la puissance laser (%/sec.) et le temps de maintien de la puissance du laser à chaque niveau de la rampe (sec) (Fayad et al., 2009; Boisvert et al., 2012; Phytronix Technologies Inc, 2013).

5.3. Source d'ionisation APCI

L'ionisation chimique à pression atmosphérique APCI a été rapportée par Horning en 1973 (Horning et al., 1973), couplée avec succès à la LC en 1974 (Horning et al., 1974). Elle est adaptée pour les analytes volatils, thermostables, neutres ou peu polaires. L'efficacité de ce mécanisme d'ionisation en fait donc un outil puissant pour de nombreuses applications.

Les interfaces APCI les plus couramment utilisés sont constituées d'un orifice capillaire d'entrée d'échantillon, entouré d'un nébuliseur coaxial capillaire. La nébulisation prend place dans une section chauffée, dans lequel un flux de gaz auxiliaire minimise l'interaction des analytes avec la paroi du tube. En face du tube chauffant on insère une aiguille de décharge corona, qui initie le processus d'ionisation. Le schéma de l'interface APCI typique est illustré à la **Figure 2**.

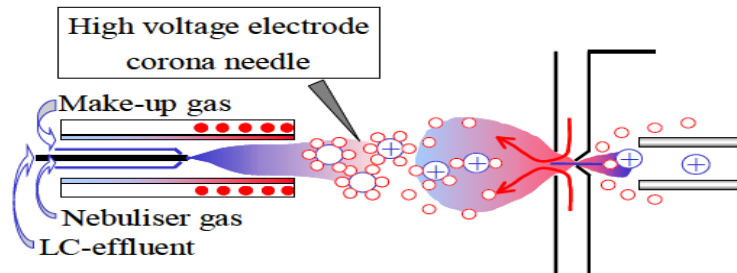
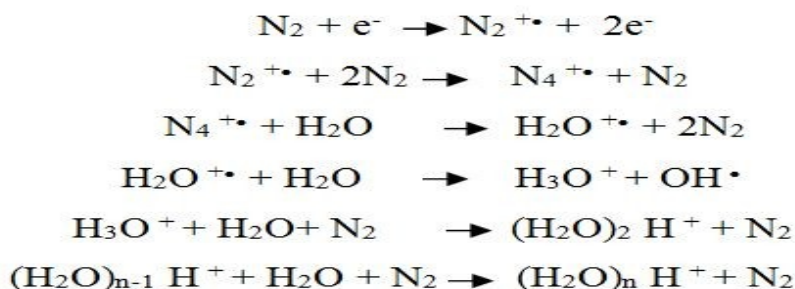


Figure 2. Une figure schématique d'une interface APCI (Bokman, 2002).

Une haute tension (+/-) de l'ordre du kV est appliquée à une aiguille pointue produisant une décharge corona qui se manifeste sous forme d'un courant de l'ordre de μA (Daves, 1979). Des électrons libres sont générés et vont entrer en collision avec les espèces majoritaires de l'air ambiant (N_2 et O_2) en créant des ions primaires autour de la pointe de l'aiguille, de nombreuses réactions chimiques différentes sont inévitables dans ces conditions, ainsi des réactions avec les molécules d'eau et/ou les molécules de solvant qui induisent la formation des ions réactifs H_3O^+ et des agrégats d'eau $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ qui vont par la suite ioniser les molécules de l'analyte en phase gazeuse.

Contrairement à une interface APCI HPLC/LC conventionnel, l'interface APCI-LDTD n'est pas constituée d'un nébuliseur et d'une cellule de quartz puisqu'il n'y a pas de besoin de vaporisation du solvant chromatographique qui est éliminé avant d'effectuer la désorption. L'utilisation du gaz N_2 dans la désolvation des analytes en APCI conventionnelle n'est plus nécessaire. L'abondance naturelle et la faible énergie de l'eau font que les molécules de l'eau de l'humidité de l'air vont jouer le rôle d'agent ionisant et les agrégats d'eau protonée constituent les ions réactifs prédominants et pourraient avoir un impact négatif sur l'ionisation des analytes et sur la sensibilité (Sinha et al., 2009). En général, la formation de ces ions réactifs passe par une séquence de réactions qui débute par l'ionisation électronique de l'azote moléculaire de l'air (Dzidic et al., 1976).



Le mécanisme d'ionisation peut prendre plusieurs voies différentes, en mode positif, le transfert de proton entre un ion réactif protoné et l'analyte est le principal mécanisme de formation des analytes chargés positivement. L'addition électrophile et l'échange de charges entre l'analyte et l'ion réactif sont des mécanismes souvent observés. La réaction de transfert de proton est régie par l'affinité protonique (AP) irrespective des composés et elle survient lorsque l'affinité protonique

des analytes est supérieure à l'affinité protonique des ions réactifs. La **Figure 3** ci-dessous résume les mécanismes d'ionisation en mode positif APCI (+).

Polarité	Réaction	Mécanismes
APCI (+)	$M + [R+H]^+ \rightarrow [M+H]^+ + R$	Transfert d'un proton
	$M + X^+ \rightarrow [M+H]^+$	Addition électrophile
	$M + R^+ \rightarrow M^+ + R$	Échange de charge

Figure 3. Mécanismes d'ionisation en mode positif APCI (+).

En mode négatif, la formation des ions chargés négativement se fait par transfert d'un proton entre l'analyte et un anion ou/et la capture électronique dissociative et non-dissociative. Cependant la capture électronique dissociative et non dissociative constitue le principale mécanisme en mode APCI (-), le caractère acide en phase gazeuse de l'analyte est déterminant dans le transfert de proton, il doit être supérieur à celui de l'ion réactif pour que le transfert ait lieu. Cependant, dans la capture d'électronique dissociative et non dissociative, les réactions sont régies par l'affinité électronique. La **Figure 4** ci-dessus résume les mécanismes d'ionisation en mode négatif APCI (-).

Polarité	Réaction	Mécanismes
APCI (-)	$M + [R+H]^+ \rightarrow [M+H]^+ + R$	Transfert d'un proton
	$M + e^- \rightarrow M^{\cdot-}$	Capture électronique
	$MA + e^- \rightarrow M^{\cdot-} + A^-$	Capture électronique dissociative

Figure 4. Mécanismes d'ionisation en mode négatif APCI (-).

Chapitre 6. A new protocol for the analysis of pharmaceuticals, pesticides and hormones in sediments and suspended particulate matter from rivers and municipal wastewaters.

Avant-propos : Ce chapitre décrit l'article associé au développement d'une nouvelle méthode d'analyse des contaminants émergents (pesticides, hormones et produits pharmaceutiques) dans des échantillons solides extraits de l'eau de rivières et des échantillons d'eaux usées municipales par LDTD-APCI-MS/MS.

La totalité des travaux associés à cet article, incluant la recherche de la littérature, la préparation des échantillons, les manipulations en laboratoire, l'analyse des résultats et la rédaction complète de l'article ont été réalisées par l'auteur de ce mémoire. Le co-auteur (M. Vo Duy) m'a initié à l'utilisation de l'instrument et aidé pour le traitement de données et la présentation des résultats. Le superviseur (Pr. Sauvé) a aidé à élaborer le plan expérimental et encadré le déroulement, l'évaluation du projet et la correction finale pour la soumission de l'article.

Pour la présentation de l'article, la version finale de l'article suite aux commentaires des réviseurs est rapportée dans ce mémoire, pour conserver la cohérence entre les premiers chapitres et l'article, les références relatives à cet article ont été intégrées aux références du reste de l'ouvrage.

A new protocol for the analysis of pharmaceuticals, pesticides and hormones in sediments and suspended particulate matter from rivers and municipal wastewaters.

Hicham Darwano, Sung Vo Duy, Sébastien Sauvé

Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128, Succursale Centre-Ville,
Montreal, QC, Canada H3C 3J7

ABSTRACT.

We developed a protocol to quantify 12 emerging contaminants (pharmaceuticals and hormones) and pesticides extracted from suspended particulate matter (SPM) of river water and municipal wastewaters samples. The separation of suspended solids was carried out through filtration of water samples. We tested a series of 6 different filter types. The effect of filtration on the concentrations of dissolved contaminants was evaluated in order to minimize losses of target compounds. The river bottom sediments samples were lyophilized and both SPM and sediment samples were subjected to ultrasonic extraction combined with C18 cartridge clean-up. Quantifications were realized using mass spectrometry. The overall method recoveries of all compounds ranged from 38 to 112 % in all studied matrix, poor recoveries were achieved for sulfamethoxazole and diclofenac (recoveries for all other compounds in the WWTP samples ranged from 68 to 111%). The detection limits in sediments and SPM from river samples for the 12 analytes varied from 0.7 to 9.4 ng g⁻¹ and from 21 to 92 ng g⁻¹ for WWTP SPM samples. All target emerging contaminants were detected with concentrations ranging from 3 to 5440 ng g⁻¹ in the studied matrices, with the highest concentrations observed in WWTP SPM samples. A significant portion of some of those contaminants is clearly associated with bottom sediments or suspended particulates. Optimization of water treatment processes and environmental fate must absolutely consider the fraction of contaminants which is particulate-bound if one hopes to have a reasonable mass balance.

Keywords: suspended particulate matter; emerging contaminants; sewage sludge; wastewater treatment plant; LDTD; filtration, extraction.

6.1. Introduction

The presence of trace emerging contaminants (ECs) in wastewaters has been the cause of increasing public concerns in recent decades due to potential risks to ecosystems and human health (Hansen et al., 1998; USEPA, 2003; Giorgino et al., 2007; Richardson, 2008; Lapworth et al., 2012). In most situations, when we mention ECs, we really mean contaminants of emerging concern (Daughton, 2004). They encompass a diverse group of compounds appearing in the daily life of urban, industrial and agricultural activities, including pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), steroids and hormones, pesticides, as well as the transformation products of most of the previous suspected environmental contaminants (USEPA, 2003; Farré et al., 2008; Richardson, 2008). A variety of sources can release and contribute to the spreading of such contaminants and have implications for human and ecological exposure (Lapworth et al., 2012). Most of the work investigating the fate of ECs in WWTPs focuses on the performance of treatment systems for the elimination of ECs from the dissolved phase (Clara et al., 2005; Quintana et al., 2005; Joss et al., 2006; Ratola et al., 2012). However, wastewaters are rich in particulates which have been found to potentially sorb several trace organic contaminants including ECs and PPCPs (Halling-Sørensen et al., 1998; Daughton and Ternes, 1999; Snyder et al., 1999; Snyder et al., 2001; Vanderford et al., 2003). However, suspended solids play an important (and often underestimated) role in the treatability and hence the degree of contaminant removal from any specific wastewater sample. The presence of compounds in the suspended solids must be determined to properly quantify their partitioning to the solid phase during the earlier stages of the wastewater treatment processes but also to follow their fate throughout the whole water treatment process and even after their release into the receiving surface waters. Suspended solids have the capacity to interact physico-chemically with a range of organic contaminants. Additionally, the nonpolar and hydrophobic nature of many ECs cause them to sorb onto suspended solids. Even relatively polar or ionic compounds may have a significant yet lower affinity to sorb onto solids and suspended particulates. As a consequence, the persistence to biodegradation and the sorption to suspended solids could be a cumulative process (Petrović et al., 2001). It is therefore critical to monitor the contamination of suspended solids, as they can act as environmental reservoirs from which ECs can later be released. In this context, we need to

improve our knowledge about the occurrence of all contaminants in suspended solids, in order to properly assess the potential sources of these compounds and provide reasonable mass balance estimates that would be amenable to environmental fate models.

The separation of suspended solids in wastewaters is critical and most published methods for the analysis the ECs in water matrices (especially pharmaceuticals and personal care products) pre-treat samples to remove suspended particulate matter (SPM) through filtration or centrifugation. Conventional filtration methods have been the main tool used for the separation of dissolved and particulate fractions in environmental samples, using an operationally-defined filter pore size of 0.45 μm or nearby size as the “threshold” between dissolved and particulate-bound (Haygarth and Sharpley, 2000). Most of the analytical methods found in literature for the analysis of low lipophilicity organic contaminants in wastewaters are mostly based on the analysis of the dissolved phase obtained after sample filtration, without considering the association of contaminants bound to the SPM that is retained on the filters (Pitarch et al., 2007; Terzić et al., 2008). Reported concentrations of such contaminants focus on the dissolved fraction of filtered samples and may therefore significantly underestimate the total concentration in the environmental sample (Barco-Bonilla et al., 2010). Another artifact that needs to be considered is that, depending on the affinity of the target ECs towards the filter material, a potentially significant portion of the ECs in the dissolved fraction could be sorbed onto the filter and thus wrongly associated with the particulate phase leading to an underestimate of the actual releases.

To date, only a limited number of studies have looked at suspended solids and most often they focus on bulk solids rather than suspended colloids, e.g., (Barco-Bonilla et al., 2010; Metcalfe et al., 2010; Baker and Kasprzyk-Hordern, 2011; Lahti and Oikari, 2011). The most commonly used approach to tackle solid samples is through various extraction techniques combined with solid phase extraction (SPE) in order to minimize interferences with matrix components and to pre-concentrate target analytes. Different techniques have been used to extract the contaminants from solid samples; the majority of the available methods are usually based on ultrasonication (USE) (Lindberg et al., 2005; Kimura et al., 2007; Chenxi et al., 2008; Spongberg and Witter, 2008; Lahti and Oikari, 2011; Viglino et al., 2011), microwave-assisted extraction (MAE) (Liu et al., 2004; Morales et al., 2005; Hájková et al., 2007) or

pressurized liquid extraction (PLE) (Jelić et al., 2009; Barco-Bonilla et al., 2010; Metcalfe et al., 2010).

Due to their selectivity, sensitivity and high precision, tandem mass spectrometry combined with liquid or gas chromatography (LC-MS/MS, GC-MS/MS) are widely used for the determination of many organic ECs contaminants in water and residues analysis. However, chromatography can require several minutes, increasing the overall analysis time and data generation. Laser diode thermal desorption (LDTD) is a relatively new sample introduction interface that does not require an HPLC step prior to introduction of the sample into a tandem mass spectrometry instrument. Using LDTD can thus allow powerful ultrafast scan combinations which can lead to rapid identification, confirmation and quantification of target analytes. The principles and mechanisms of LDTD coupled to atmospheric pressure chemical ionization (APCI) source have been extensively discussed elsewhere (Fayad et al., 2009) . Samples of the peak obtained using an LDTD-MS/MS determination extracted for a solid sample have been illustrated for sewage sludge (Mohapatra et al., 2012). Recently, some analytical methods based on this technique have been developed to detect some multi-residue analyses of pesticides and various ECs in wastewaters (Fayad et al., 2009; Boisvert et al., 2012; Lemoine et al., 2013), as well as in various solid matrices such as municipal sewage sludge cakes, aquatic sediments or agricultural soils (Viglino et al., 2011; Mohapatra et al., 2012) or antibacterial compounds in milk samples (Segura et al., 2010).

Currently, trends in analytical chemistry for ECs are oriented towards the development of multi-residue analytical methods in different matrices. The analytical challenges are the ultratrace concentration levels of such contaminants (usually $\mu\text{g g}^{-1}$ or ng g^{-1} range), the complexity of the matrix and the diversity of the physicochemical properties of the target analytes. We selected 12 ECs compounds for this study based on their physical properties and the environmental occurrence, taking care to include some pesticides and pharmaceuticals from different therapeutic classes, along with natural hormones. The target ECs include both lipophilic and various polar contaminants (mainly pharmaceuticals). We purposefully integrated a range of lipophilicity (using the octanol-water partitioning - K_{ow}) within our series of target contaminants in order to quantify the sorption for compounds which we tend to presume will not have tend to sorb onto suspended particulates. The objective of our study is the development of an adequate extraction method for the determination of 12 target

compounds of variable lipophilicity in SPM and sediments. The proposed protocol is based on the combination of an ultrasonic extraction, selection of appropriate filtration media, optimization of solid phase extraction (SPE) as a clean-up step and ultrafast analysis of the resulting extracts using LDTD-APCI-MS/MS (Boisvert et al., 2012; Vo Duy et al., 2012).

Table 3. Selected physicochemical properties of the studied compounds.

	Abb	Common name	Category	MW	S _w (mg L ⁻¹)	Log K _{ow}	pK _a	Vapor Pressure (mm Hg)
<u>Pesticides</u>	ATZ	Atrazine	Herbicide	215.69	34.7 ^b	2.61 ^c	1.7 ^b	2.89E-07 ^c
	DEA	Desethylatrazine	Herbicide	187.63	3200 ^c	1.51 ^c	1.4 ^b	9.33E-05 ^c
<u>Estrogens</u>	E2	Estradiol	Estrogens	272.39	3.6 ^a	4.01 ^a	10.3 ^a	1.26E-08 ^c
	EE 2	Ethinylestradiol		296.41	4.8 ^b	3.67 ^a	10.4 ^a	2.67E-09 ^c
	NOR	Northindrone	Progestagens	298.43	7.0 ^a	2.97 ^a	na	7.31E-09 ^c
	PROG	Progesterone		314.5	8.8 ^a	3.87 ^a	na	1.30E-09 ^c
	MPROG	Medroxyprogesterone		344.5	22.2 ^a	3.50 ^a	na	na
	LEVO	Levonogestrel		312.4	2.1 ^a	3.28 ^a	na	3.93E-10 ^c
<u>Antipileptic drugs</u>	CBZ	Carbamazepine	Anticonvulsant	236.28	17.7 ^a	2.45 ^a	13.9 ^b	1.84E-07 ^c
<u>Nervous stimulant</u>	CAF	Caffeine	Stimulant	194.19	21600 ^a	- 0.07 ^a	10.4 ^a	15
<u>Antibiotic</u>	SMX	Sulfamethoxazole	Antibiotic	253.28	610 ^a	0.89 ^a	6.16 ^a	6.93E-08 ^c
<u>Antiinflammatory drugs</u>	DCF	Diclofenac	Anti-inflammatory	296.16	2.4 ^a	4.51 ^a	4.15 ^a	6.14E-08 ^c

S_w: water solubility mg L⁻¹, MW: Molecular weight,

^aRef. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00603>.

^bRef.(Aboufadi et al., 2010)

^cRef. <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/>.

na: Not available.

6.2. Experimental

6.2.1. Chemicals and material

The selected analytes are summarized in Table 3; abbreviations used in figures and tables are given along with molecular weights, solubility in water, log K_{ow}, and pK_a. All standards were of the highest purity available (>97%) and provided by Sigma-Aldrich Canada (Oakville, ON, Canada). The internal standards [¹³C₃]-atrazine, [¹³C₂]-ethinylestradiol, carbamazepine-d₁₀, [¹³C₃]-caffeine and [¹³C₆]-sulfamethoxazole were obtained from Cambridge Isotope

Laboratories, Inc. (Andover, MA), whereas diclofenac-d₄, was obtained from C/D/N Isotopes (Pointe-Claire, Qc, Canada). All solvents were of Trace Analysis grade from Fisher Scientific (Whitby, ON, Canada) and purified water was generated by a Millipore-Q RG water purification system. Individual standards stocks of analytes (at 1000 mg L⁻¹) and the mixed internal standard at a concentration of 1 mg L⁻¹ were prepared in methanol and stored at -20°C in amber glass bottles. A mixture of all individual standards was prepared in methanol at a concentration 20 mg L⁻¹; working solutions were prepared daily by diluting the standard stock solution.

The various filters compared in the filtration tests, mixed cellulose esters, polycarbonate, polyester, glass fiber, polypropylene and silver are enumerated in Table S1 along with their basic characteristics. The solid-phase extraction (SPE) cartridges (6 mL, 500 mg Strata C18) were obtained from Phenomenex (Torrance, CA, USA).

6.2.2. Sample collection and pretreatment

River sediments

Two different types of sediments were chosen for the tests. We used river sediments sampled in the Des Prairies River (north of the Montreal Island and south of Laval). We also collected SPM using traps installed approximately 4 km downstream from the Montreal's WWTP discharge point. Both types of samples were frozen at -20°C and lyophilized, ground using a mortar and pestle, wrapped in aluminum paper and stored at -20°C before being extracted and analysed.

Wastewater particulates

We obtained SPM from a WWTP in the Quebec City area. The samples were collected before and after a primary sedimentation tank fed with raw wastewater taken after grit removal. Samples were collected in amber glass and were kept at 4°C and treated within 48 h in order to minimize microbiological transformation, we have kept the delay as short as logistically possible. Filtered samples were shown to be well preserved for at least 3 days (Aboufadel et al., 2010). No preservatives were added. Prior to extraction, SPM in wastewater samples was collected using a combination of decantation and filtration. A portion of the wastewater (300-500 ml) was decanted overnight in a graduated glass cylinder. The SPM were filtered through

glass fiber membrane filter (0.4 μm 47-mm glass microfibre filters), the filter containing the SPM was oven-dried at 30°C for approximately 12h and stored at 4°C until analysis.

6.2.3. Filtration recovery test

We selected six different filters of various materials (Table S1) to compare the effect of membrane filtration on the dissolved concentrations of the target analytes. The filtration was performed using 25-mm diameter filters held in Swinnex filter holders. The purified water was spiked at 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ with the target analytes and the filtration test measurement was carried out by filtration of three times 10 ml, using 20-mL BD™ syringes. Each 10 mL of filtrate was collected in a separate conical centrifuge vial testing (conical silanized clear glass, unsilanized clear-glass and polypropylene) Three replicates of the filtration tests were performed. Filtration was carried immediately prior to analysis, the percent recovery was calculated by comparison of the peak areas obtained from the unfiltered spiked sample.

6.2.4. Distribution study

In order to determine the fractionation between the filtrate and the filter, three different matrices (dd-water, tap water and wastewater influent) were spiked with 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ of the target analytes and shaken overnight. The samples were then filtered through 25-mm filters using the Swinnex filter holders. We tested 25-mm filters made of mixed cellulose esters filters (0.45- μm pore size), polyester (0.4- μm pore size) and glass fiber (0.4- μm pore size). The filtrates were collected in conical polypropylene centrifuge tubes and analyzed directly. For the dried filter, different extraction processes were performed depending on the type of filter. To minimize the loss of compounds due to sorption on the tube's surface, polypropylene centrifuge tubes were used in this case.

For the analysis of the filters, the mixed cellulose ester filter was dissolved in 1 mL acetonitrile, mixed vigorously, kept in ultrasonic bath for 10 min at 30°C and centrifuged for 10 min (220 g). After extraction, the supernatant was collected, evaporated to dryness under a nitrogen stream at 30°C and reconstituted to 200 μl with methanol for LDTD-MS/MS analysis. The polyester filter and glass fiber filters were extracted with 5 mL of methanol-acetone (3:1,

v/v), mixed vigorously, kept in ultrasonic bath for 20 min at 30 °C, stirred for 30 min and centrifuged for 20 min (220 g). After extraction, the supernatants were collected, evaporated to dryness and reconstituted to 200 µl with methanol for LDTD-MS/MS analysis. The test was performed in triplicate and the calculation of final results took into consideration the required sample dilution and volume changes.

6.2.5. Ultrasonic solvent extraction

For the analysis of filters used to retain SPM (47-mm Glass fiber filters 0.4-µm pore size) or solid samples such as bottom sediments, 0.5-1.0 g of freeze-dried material was successively extracted with 5 and 3 ml of methanol-acetone (3:1, v/v) in a 15 ml conical polypropylene centrifuge tube. In each extraction cycle, the sample was vigorously shaken for during 30s, kept in an ultrasonic bath for 20 min at 30 °C, stirred for 30 min and centrifuged for 20 min at 220 g. After each step extraction, the supernatants were collected, combined and evaporated to total dryness under a nitrogen stream at 30 °C.

6.2.6. Sample clean-up procedure

The extracts were evaporated to dryness, reconstituted to 3 ml of an acetonitrile-water (7:3, v/v) vigorously shaken during 30 s and ultrasonicated for 5 min. A clean-up step was then carried out by using a STRATA C18 SPE cartridge previously conditioned with 2 ml of methanol, followed by 2 ml of acetonitrile-water (7:3, v/v). The extracts were then collected into a conical polypropylene centrifuge tube following an elution with 3 ml of acetonitrile-water (7:3, v/v). The internal standards mix was added to the final solution after elution, evaporated to dryness under a nitrogen stream at 30 °C and reconstituted to 250 µl with methanol for LDTD-MS/MS analysis.

6.2.7. LDTD-MS/MS system

Quantification of the target compounds was achieved with the LDTD-APCI ionization source, developed and manufactured by Phytronix Technologies (Quebec, QC, Canada), mounted on a TSQ Quantum Ultra AM Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Samples were spotted (3 μL) into the LazWell96-well polypropylene plate cavities containing inserts made of a proprietary stainless steel alloy and left to dry at 40°C. An infrared (IR) laser diode (980 nm, 20 W, continuous) was then focused onto the back of the inserts, thermally desorbing the dried sample, which was vaporized into the gas phase. The desorbed gas phase neutral molecules were carried over by a carrier gas (medical grade purified air) into a corona discharge region to undergo APCI and then introduced directly into the mass spectrometer. The analytical conditions have been described in detail previously (Boisvert et al., 2012; Vo Duy et al., 2012). Briefly, the mass spectrometer was operated in positive APCI using selected reaction monitoring (SRM) mode, the most abundant transition was selected for quantitation, while the confirmation transition was selected as the second most abundant intensity. Internal standards were used to compensate for signal suppression or enhancement of analytes. Resulting MS/MS peaks were integrated by using the ICIS (Interactive Chemical Information System) algorithm of the Xcalibur 1.2 software from Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA) and determined from the ratio of the analyte area to that of the isotopically-labeled IS.

6.2.8. Calibration and validation

All recoveries of the whole method, extraction and clean-up were determined in triplicate relative to the blank samples comparing the concentrations obtained with two levels determined from the expected range of concentrations obtained with preliminary data (25 and 100 ng g^{-1} for river sediments, 50 and 100 ng g^{-1} for trapped river SPM and 300 and 900 ng g^{-1} for SPM from WWTP effluents). The recoveries were calculated by comparing the peak area ratios obtained from spiked samples before the extraction and clean-up with the peak area ratios from the same samples without standard solution addition (blanks) and the peak area ratios obtained from spiked samples after extraction and clean-up. Quantification, based on peak area ratio, was performed by standard addition method to correct for matrix effects. Linearity was investigated over an eight-point calibration analyzed in duplicate with spiked samples ranging from 2-100 ng g^{-1} for river sediments, 10-200 ng g^{-1} for trapped river SPM and 64-2000 ng g^{-1} for SPM of WWTP, the upper range was selected based on maximum observed concentrations. Only the lower concentration data points showing good linearity were used for the calibration curve (always > 5 points). The limits of detection were

determined experimentally as 3.3 times the standard deviation of the intercept divided by slope of the calibration curve, as proposed by the International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH, 2005). The robustness and stability of the method were evaluated in terms of repeatability, variability (intra-day precision) and reproducibility (inter-day precision) by spiking in duplicate for each matrix (25 ng g⁻¹ for river sediments, 50 ng g⁻¹ for trapped river SPM and 300 ng g⁻¹ for SPM WWTP). The repeatability was tested using replicated samples, the variability of the method was measured twice using the relative standard deviation of a single sample analyzed in the same day (n=5), reproducibility was evaluated using a single sample that is analyzed in triplicate over a three-day period (n=3).

6.3. Results and discussion

6.3.1. Filtration and distribution study

6.3.1.1. Filtration study

Filtration has become a nearly universally pretreatment used for sample preparation of wastewater samples for organic contaminant analysis. This pretreatment could potentially remove a significant portion of the contaminants in a given water sample that would be associated to the SPM and lead to underestimation of total contaminants if the particulate-bound load is not quantified. Improper selection of the filter material could also remove some dissolved contaminants and thus result in an underestimation of dissolved concentrations.

We first tested the recovery of the target analytes following the filtration of spiked purified water (Figure 5, S1 and S2). A total of six different filter materials (Table S1) and three types of conical centrifuge vials were investigated. Results are shown in Table S2 for the polypropylene centrifuge tubes and the other data can be found in Tables S3 and S4 for silanized and unsilanized clear-glass. We concluded that all compounds were compatible with three filters under the given conditions: glass fiber, polyester and polycarbonate filter all yielded recoveries above 70%, except for DEA (62%±6) with silanized glass centrifuge tubes. However, a higher recovery (> 91%) was obtained with glass fiber filter for all selected

compounds recuperated in polypropylene centrifuge tubes and this recovery was deemed satisfactory.

Atrazine, desethylatrazine, caffeine and carbamazepine all gave acceptable recoveries for the silver, polypropylene filters and mixed cellulose esters filters tested. However, lower recoveries were often obtained for the lipophilic contaminants (hormones, diclofenac) and sulfamethoxazole. The most hydrophobic compounds tended to interact with the filter and require the selection of the right filter material to prevent losses. An exception was observed for the filtration of the polar contaminants with the silver filter, where a slight loss is observed and attributed to the ionic nature of polar compounds and potential ionic interaction with the metallic filter surface: recoveries of $63\% \pm 14$ were obtained for sulfamethoxazole using the conical polypropylene centrifuge vials and $69\% \pm 5$ for diclofenac using the silanized glass centrifuge vials.

The filter materials were tested to determine the most appropriate conical centrifuge vial for the 12 target compounds dissolved in dd-water. In general, the results indicated no large difference among the three materials selected for most of the target compounds using 0.4 or 0.45 μm pore size filters. Only while using a 0.2 μm filter pore size we notice an observable difference, especially for hydrophobic compounds. The difference could be result from the pore size, independently of the filter type. The recovery of target compounds following filtration tends to decrease with decreasing pore size. The filters with smaller pore sizes had more membrane surface area available for contact with purified water than the larger pore sized filters. In addition, the contact time of purified water filtered on the filter was higher for the smaller pore size filters compared to the larger pore size filters (Khan and Subramania-Pillai, 2006). As a result, we can expect a more significant interaction for the first filtrate fraction collected in conical propylene centrifuge vial. The recoveries for progesterone were much lower with 0.45 μm mixed cellulose ester filter than in the other filter types ($>71\%$). Mixed cellulose ester filters exhibit a high degree of adsorption of progesterone compound and thus do not appear to be adequate for progesterone filtration, although the use of silanized tubes was most suitable for progesterone filtration. The glass tube interacts strongly with progesterone and medroxyprogesterone and a higher loss was observed with the mixed cellulose ester: progesterone ($93\% \pm 1$) and medroxyprogesterone ($46\% \pm 4$).

In order to minimize losses of target compounds onto the filter material and tube, we selected polypropylene due to its performance in the filtration tests and the fact that it required no pretreatment step as compared to silanized glass. The three filters: glass fiber filter, polyester filter and polycarbonate filter were found to be suitable for all target compounds.

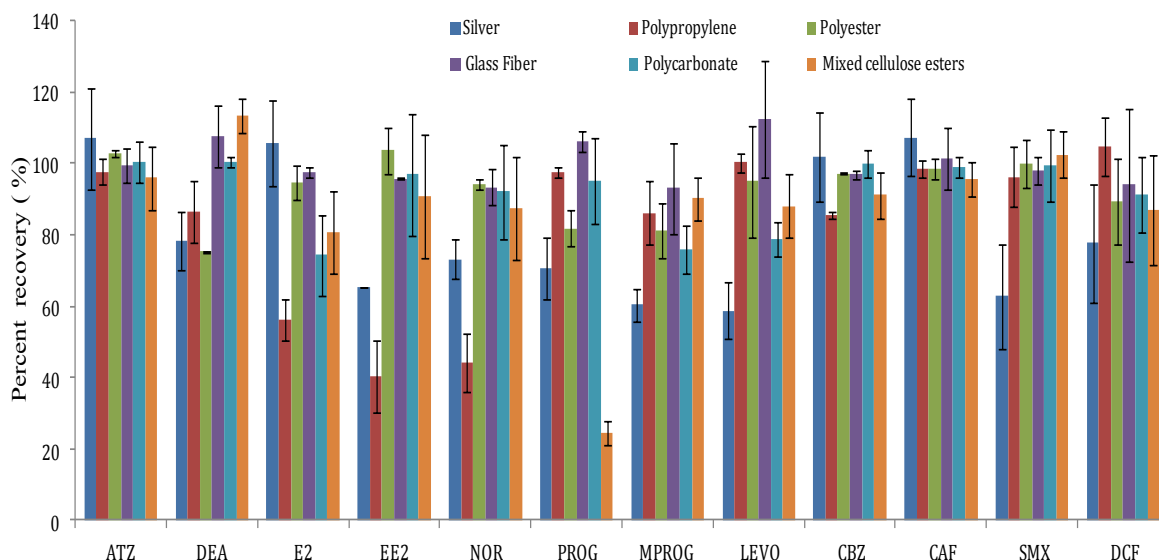


Figure 5. Filtration recovery of target compounds from spiked purified water sample ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) for various filter types with polypropylenes tube ($n=3$). Error bars represent standards deviations of triplicate measurements.

6.3.1.2. Distribution study

To evaluate the magnitude of the filtration effect on the dissolved concentration, two different approaches were tested in three matrices for the analysis of the fraction retained on the filter. We tested a dissolution method for the mixed cellulose ester filters and a traditional ultrasonic extraction method for polyester and glass fiber filters. The mixed cellulose ester filters caused higher losses for progesterone and was compatible with most organic solvents as they readily dissolve (see Tables S2, S3 and S4). Polyester and glass fiber filters also showed good performance in the filtration test and were resistant to the organic solvent. A range of extraction solvents were tested for the desorption of the analytes from the membrane, acetonitrile was selected for the cellulose ester filters and a methanol-acetone mix (3:1) was

selected for polyester and glass fiber filters due to the high recoveries for all compounds (data not shown).

The fractionation results between the filtrate and the filter are shown in Table S5 (cellulose ester filter) and Tables S6 and S7 for polyester and glass fiber filters. As expected, analysis of filtrate of the three filters showed good recovery rates (>74%) for all compounds with the three types of matrices, with the notable exception of progesterone with cellulose ester filters (43-47% for different matrices). The analysis of the filters show a good mass balance between the filtered fraction and the fraction retained on the filter (see Figures 2 and S3). For the mixed cellulose filters with progesterone, the dissolved fraction was 43-47% and the analysis of the filters showed a moderate retention of 48-59%. We observed 75-108% of the medroxyprogesterone in the filtered fraction and 19-34% in the fraction retained on the filter. In comparison to the other compounds, the hormones have shown the highest rate of retention on the mixed cellulose esters filter (3-59%) and lower sorption onto polyester and fiber glass filters 0.2-6% (Tables S5, S6, S7 and Figures S3, S4 and S5).

The comparison of the three different matrices used in this test indicates that there was no difference between fractions retained on the mixed cellulose esters filters for the three matrices, while for the other two filters we observed a slight increase in the rate of retention of compounds as we move from purified water to tap water and wastewater influent. Preliminary experiments were performed to determine the filtration capacity of each filter. Different pore sizes (8-0.4 μm) were tested for each of the three selected filters. The polyester and polycarbonate filter clogged more easily than the glass fiber filters of equivalent pore size, thus limiting their usefulness. The glass fiber filter was then selected as the best choice for the filtration of our target compounds in order to minimize losses due to sorption on the filter material and to maximize the volume of water that can be filtered through a single filter before clogging.

6.3.2. Method development

The initial operating conditions were selected from previous studies, in which 14 EDCs were determined in solid matrices (Viglino et al., 2011). Some further modifications have been enacted to further minimize matrix effects and to achieve fast and efficient extraction of the

target compounds from the solids. The extraction procedure was optimized using triplicate samples of sediments and SPM spiked to 200 ng g⁻¹ with small volumes (0.1 to 0.3 ml) of target analytes in methanol and blank samples. We optimized the extraction solvents, extraction time, and the number of extraction cycles. The spiked samples were stirred vigorously in order to enable sufficient contact of the analytes with the matrix and were left to equilibrate for 24h at 4°C before extraction. Sonication time is a significant factor and it must be carefully controlled to ensure that only desired effects are produced. Ali and Baugh found that the average recovery of pesticides increases with longer extraction time, but the increase was not statistically significant above 30 min of extraction (Ali and Baugh, 2003). However, they also observed a risk for the re-adsorption of pesticides onto soils during extraction, especially at prolonged ultrasonic extraction times. We tested two ultrasonic extraction time (20 and 30 min) and two periods for agitation (30 and 45 min). There were no statistically significant differences for the various extraction and agitation periods. We therefore selected the shortest periods (a sonication time of 20 min with 30 min of agitation, data not shown).

The best extraction solvent must be able to maximize dissolution of the target analytes while minimizing matrix effects. Since the target analytes vary in physicochemical properties, different pure solvents and binary mixtures were selected to improve the recoveries. The extraction solvents tested were: methanol, acetone, acetonitrile, ethyl acetate, methanol: acetone (3:1, 1:1, 1:3) (see Table S8, and Figure S6). The results are compound-dependent and vary according to the different solvents and combinations used. The number of extraction cycles was optimized, each extraction cycle introduces fresh solvent, and thus increases overall recoveries, but in the interest of resource limitations we must nevertheless minimize the number of extractions. We have managed to obtain satisfactory extraction and achieved nearly complete recoveries within two extraction cycles, albeit the first fraction had almost all the compounds extracted with good recoveries, the second cycle was introduced mainly to improve the recoveries of CAF, DCF and SMX. The final procedure was two cycles of 20 min using a 3:1 methanol: acetone mixture.

Various matrix components can be co-extracted and interfere during the thermal desorption or ionization processes and influence the ionization efficiency of the analyte, the signal baseline and adversely affect the reproducibility and accuracy of the method. To alleviate such matrix effects, we implemented a sample cleanup step after the extraction. Different SPE cartridges

were tested (STRATA-X, STRATA-XC, STRATA-C8 STRATA-C18 STRATA-Si STATA-ABW) and the clean-up performance was evaluated by monitoring the signal to-noise and the recoveries of the compounds. Matrix effects were most pronounced, especially for the hormones (more lipophilic with $\log K_{ow}=2.69$ to 4.15) and some pharmaceutical products (diclofenac $\log K_{ow} =4.51$ and sulfamethoxazole $\log K_{ow}=0.89$), recoveries of the compound were different for every cartridge's solid phase depending the physicochemical properties (data not presented). Satisfactory results in terms of clean-up performance and recoveries were obtained for each compound using a STRATA-C18 cartridge which was selected for the clean-up.

6.3.3. Method validation

The method performance was validated for each type of matrix in terms of recovery, precision and method detection limits (MDLs). The recovery data for the river sediments of the Des-Prairies River and SPM from both the St-Lawrence River and a WWTP are shown in Table 4. Extraction efficiency was compound dependent and also affected by the sample type. Overall, if we exclude caffeine, sulfamethoxazole and diclofenac, the recoveries for SPM ranged from 68 to 111 % with a mean value of 92%. The recovery values were weaker for the three pharmaceuticals: caffeine (48-112%), sulfamethoxazole (58-85%) and diclofenac (38-68%). The differences in the extraction recoveries between pharmaceutical compounds and sample matrices are consistent with those reported earlier (Camacho-Muñoz et al., 2009; Radjenović et al., 2009). Caffeine and sulfamethoxazole showed low extraction recoveries in the Des Prairies River sediments and DCF was the most difficult to extract from all matrices tested. The results were nevertheless within the reported acceptable range for recoveries of pharmaceuticals from solid matrices (Camacho-Muñoz et al., 2009; Radjenović et al., 2009), especially when taking into account the complexity of the matrix tested and the range of water solubility, lipophilicity and pK_a of the target analytes (Table 1).

Table 4. Recoveries (mean \pm SD) of each compounds in suspended matter from rivers and municipal wastewaters samples in replicate (n=3) for solid samples spiked at two levels. The results for the spiking experiments have been corrected for blanks (n = 3).

Compounds	Recovery (%)					
	Bottom sediment (n = 3)		SPM river (n = 3)		SPM WWTP (n = 3)	
	25 ng g ⁻¹	100 ng g ⁻¹	50 ng g ⁻¹	100 ng g ⁻¹	300 ng g ⁻¹	900 ng g ⁻¹
ATZ	102 \pm 7	89 \pm 11	80 \pm 5	81 \pm 4	108 \pm 11	72 \pm 7
DEA	90 \pm 5	91 \pm 9	68 \pm 10	101 \pm 9	96 \pm 10	82 \pm 16
E2	97 \pm 3	87 \pm 5	98 \pm 2	93 \pm 6	73 \pm 9	73 \pm 1
EE 2	100 \pm 7	106 \pm 5	91 \pm 6	92 \pm 5	88 \pm 20	71 \pm 6
NOR	93 \pm 3	79 \pm 6	95 \pm 12	89 \pm 6	102 \pm 8	103 \pm 13
PROG	100 \pm 1	101 \pm 11	109 \pm 12	86 \pm 11	103 \pm 18	91 \pm 5
MPROG	109 \pm 9	102 \pm 11	101 \pm 12	78 \pm 9	97 \pm 5	89 \pm 9
LEVO	96 \pm 2	105 \pm 3	98 \pm 16	84 \pm 10	111 \pm 16	92 \pm 1
CBZ	80 \pm 3	72 \pm 8	92 \pm 6	85 \pm 5	92 \pm 15	82 \pm 4
CAF	61 \pm 4	48 \pm 5	78 \pm 6	75 \pm 2	112 \pm 2	78 \pm 7
SMX	77 \pm 3	64 \pm 4	69 \pm 11	58 \pm 9	72 \pm 9	85 \pm 9
DCF	41 \pm 2	45 \pm 1	68 \pm 11	56 \pm 1	38 \pm 5	54 \pm 5

The calibration data are shown in Table 5; the correlation coefficients were good with values above 0.99 for all matrices. MDLs of each compound in each type of matrices are summarized in Table 3. The MDLs achieved for the river samples ranged from 0.7 to 9.4 ng g⁻¹ and were in good agreement with those obtained for EDCs in solid matrices using the same instrument (Viglino et al., 2011) and comparable for carbamazepine with a similar setup (Mohapatra et al., 2012). Higher MDLs values were found for SPM and ranged from 21 and 92 ng g⁻¹, this lower performance is attributed to the relatively small sample mass of SPM collected on the filter, approximately 30-100 mg of SPM. This significantly smaller mass reduced the amount of analyte and also contributed to the MS signal suppression when the analyzed mass of material was lower than 1 g (Viglino et al., 2011). A 0.5 and 1 g sample mass was selected for the river sediments and the river SPM. The repeatability and variability of the method, estimated as RSD %, varied from 1 to 19%. Reproducibility was good with a variability lower than 23 % for all compounds in all matrices (see Table 5).

Table 5. Calibration and validation parameters including coefficient of correlation R^2 , MDLs (ng g^{-1}), repeatability (duplication of same sample - intra-day, $n=5$) and reproducibility (duplication of same sample - inter-day, $n=2$) of the method in solid samples.

Compounds	River sediment				River suspended particulate matter				WWTP suspended particulate matter			
	R^2	MDL (ng/g)	Repeat. (RSD%) (n=5)	Reprod. (RSD%) (n=3)	R^2	MDL (ng/g)	Repeat. (RSD%) (n=5)	Reprod. (RSD%) (n=3)	R^2	MDL (ng/g)	Repeat. (RSD%) (n=5)	Reprod. (RSD%) (n=3)
ATZ	0.9990	0.7	4	9	0.9980	3.7	0.1	3	0.9970	49.4	0.1	3
DEA	0.9990	1.2	5	12	0.9980	3.2	3	17	0.9993	41.8	3	17
E2	0.9990	1.1	21	7	0.9975	9.3	18	7	0.9995	21.1	18	7
EE 2	0.9970	4.4	16	7	0.9956	6.3	10	14	0.9982	32.5	10	14
NOR	0.9995	1.4	23	7	0.9994	4.4	3	15	0.9960	58.7	3	15
PROG	0.9986	3.1	8	14	0.9984	8.9	8	8	0.9966	56.4	8	8
MPROG	0.9977	3.7	6	8	0.9937	5.6	5	14	0.9982	32.9	5	14
LEVO	0.9954	5.6	6	14	0.9982	9.5	10	14	0.9965	92.2	10	14
CAF	0.9939	3.0	6	6	0.9993	5.0	1	4	0.9957	63.1	1	4
CBZ	0.9999	0.9	2	7	0.9970	4.0	2	6	0.9966	25.9	2	6
SMX	0.9912	9.4	8	14	0.9982	6.6	21	13	0.9926	40.7	21	13
DCF	0.9950	4.8	6	9	0.9995	3.6	16	14	0.9937	61.2	16	14

6.4. Application to real samples

The developed method was applied to three different samples; river sediments from the Des Prairies River, SPM from the St-Lawrence River and SPM from the influent and effluent of a WWTP (see Table. 6). In the river samples, the concentration of all compounds was above the detection limits of our method. Steroid hormones and antibiotic drugs were the most abundant compounds, the highest concentrations were observed for the majority of compounds at concentration levels ranging from 3 to 262 ng g^{-1} , such levels are comparable to those reported earlier (Capone et al., 1996; Ternes et al., 2002a; Lopez de Alda et al., 2003; Viglino et al., 2011). The highest concentrations were found in the Des Prairies River sediments for SMX (174 ng g^{-1}) and DCF (262 ng g^{-1}) respectively, these values are similar to those reported for pharmaceuticals in SPM (Lahti and Oikari, 2011).

For all SPM samples analysed, all compounds (hormones, antibiotic drugs and pesticides) were detected at significant levels in the WWTP influent and effluent samples and ranged from 46 to 5440 ng g^{-1} . Atrazine and its metabolite desethylatrazine were present at 83 and 91 ng g^{-1} respectively in the influent sample and were below the MDL in the SPM effluent sample (Table 6). It must be emphasized that for some of the tested compounds, the most hydrophilic were not expected to have a strong tendency to sorb to SPM and the measured concentrations of contaminants sorbed onto SPM suggest that the environmental fate will require the integration of solid-liquid partitioning in wastewaters. Hormones and antibiotic

drugs show the highest concentrations with all compounds indicating a high affinity for SPM. Concentration levels show an acceptable agreement with the scarce information available on the concentrations of organic contaminants levels expected in such particulate phase albeit the sources and nature of the particulates are quite variable (Hamscher et al., 2002; Kimura et al., 2007; Barco-Bonilla et al., 2010; Baker and Kasprzyk-Hordern, 2011; Lahti and Oikari, 2011; Mohapatra et al., 2012; Senta et al., 2013).

In general, differences were found between the particulate concentrations of selected compounds in the influent and effluent from the primary sedimentation of the WWTP. Two compounds (MPROG and DCF) showed similar concentrations in wastewater SPM before and after the sedimentation treatment. The sedimentation treatment resulted in lower effluent SPM concentrations for five selected compounds: ATZ, DEA, E2, EE2 and SMX. The SPM concentrations of the other compounds (NOR, PROG, LEVO, CBZ and CAF) increased following their passage through the sedimentation tank. While this may seem counterintuitive (the water treatment increases the concentrations of the contaminants), this is especially significant for some of the hormones and could be attributed to a higher affinity of those compounds for the finer SPM which are more difficult to remove. The treatment is still effective and removes significant amounts of contaminants on a total basis. In a sedimentation system, the portion of suspended particulates that would be more recalcitrant to sediment out in the tank would be smaller and lighter and thus remain in the effluent. Such smaller SPM would tend to have a higher specific surface area. The sedimentation tank is still efficient, given that total contaminant releases would be reduced after sedimentation, the larger particulates with a lower concentration have been removed but the concentration in the remaining SPM would have increased.

All target compounds were detected on some of the SPM or tested sediments. These results show that measuring only the dissolved fraction of organic contaminants may underestimate the loading and risks to the aquatic environment. The results in Table 6 include the calculated loading on a volume basis (i.e. the product of multiplying the concentration of contaminants in the particulate with the particulate loadings). This concentration reflects how much ECs actually occur within the SPM fraction. Comparing this data with aqueous phase samples from the same WWTP (Boisvert et al., 2012), suggests that the compounds are distributed between the aqueous phase and the particulate phase depending on their hydrophobicity. The hormones

and the antibiotics showed comparable concentrations between what was observed in the aqueous phase relative to the equivalent SPM estimate. The concentration of caffeine was significantly higher in the aqueous phase (3430 ng L^{-1}) relative to what we observed bound to SPM (40 ng L^{-1}). Given the low K_{ow} and polar nature of caffeine, this is not too surprising.

Table 6. Concentration levels of select compounds (mean \pm SD, n=6) in suspended matter from rivers and wastewater samples before and after a primary sedimentation treatment. The trend arrows shows if the concentration in the SPM is decreasing, increasing or staying roughly similar before and after the WWTP treatment ($p < 0.05$). Values in the rows with the same letters, are not statistically different ($n = 3$; $p < 0.05$ level using a Tukey's-b post hoc test).

Compounds	River Sediment (ng g^{-1})	SPM River (ng g^{-1})	SPM WWTP (ng g^{-1})			WWTP (ng L^{-1})	
			Influent	Effluent	Trend	Influent $109 \text{ mg L}^{-1} \text{ SPM}$	Effluent $58 \text{ mg L}^{-1} \text{ SPM}$
ATZ	15 ± 1	55 ± 1	83 ± 9	$\leq \text{MDL}$	↓	8 ± 9	$\leq \text{MLD}$
DEA	9 ± 1	9 ± 1	91 ± 1	$\leq \text{MDL}$	↓	8 ± 1	$\leq \text{MLD}$
E2	149 ± 18	149 ± 15	4955 ± 9^a	3333 ± 10^b	↓	450 ± 9	162 ± 10
EE2	86 ± 16	70 ± 5	5435 ± 14^a	46 ± 2^b	↓	494 ± 14	2 ± 1
NOR	45 ± 5	29 ± 3	1148 ± 10^a	2804 ± 18^b	↑	104 ± 10	136 ± 18
PROG	111 ± 14	97 ± 15	1381 ± 14^a	4767 ± 16^b	↑	125 ± 14	231 ± 16
MPROG	3 ± 1	$\leq \text{MDL}$	151 ± 9^a	165 ± 13^a	~	14 ± 9	8 ± 13
LEVO	41 ± 7	28 ± 4	1575 ± 17^a	2915 ± 17^b	↑	143 ± 17	142 ± 17
CBZ	3 ± 1	$\leq \text{MDL}$	70 ± 6^a	147 ± 12^b	↑	6 ± 6	7 ± 12
CAF	7 ± 1	7 ± 1	444 ± 14^a	542 ± 14^b	↑	40 ± 14	26 ± 14
SMX	174 ± 17	77 ± 12	1672 ± 14^a	614 ± 16^b	↓	152 ± 14	30 ± 16
DCF	262 ± 18	145 ± 21	1673 ± 14^a	2376 ± 18^b	↑	209 ± 14	115 ± 18

6.5. Conclusion

We have proposed a method for a two-cycle extraction of lyophilized solids or SPM from bulk water samples combined with an ultrafast mass spectrometry quantification through an LDTD interface. The results show detectable levels of the target analytes in nearly all the samples analysed, including river sediments, SPM from a river affected by municipal effluents and the analysis of SPM from wastewater samples before and after a primary sedimentation treatment. All determinations were carried out using a multi-residue analytical approach, based on ultrasonic extraction combined with a C18 clean-up. The results confirmed a widespread occurrence of the emerging contaminants in suspended matter from rivers and municipal

wastewaters samples. The most abundant contaminant classes were hormones and some pharmaceuticals drugs, indicating their high affinity for solids.

Such results also underline the importance of analyzing both the dissolved and particulate phases in order to properly evaluate such environmental contaminants. Integrating the analysis of the particulate fractions will allow a proper mass balance approach to model the physicochemical removal mechanisms of ECs in WWTP and within receiving surface waters.

Acknowledgements

We thank John Meunier Inc., Veolia Water, the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and the Canadian Foundation for Innovation (equipment) for their financial support. We are also grateful for the technical support of Khadija Aboulfadl and for the logistical support from Peter Vanrolleghem's research group at Université Laval.

Supporting Information

SUPPLEMENTARY MATERIAL

A new protocol for the analysis of pharmaceuticals, pesticides and hormones in sediments and suspended particulate matter from rivers and municipal wastewaters

Hicham Darwano, Sung Vo Duy, Sébastien Sauvé

Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128, Succursale Centre-Ville, Montreal, QC, Canada H3C 3J7

Table S 1. List of membrane filters evaluated in this study.

Filter material	Filter type	Product characteristic	Pore size (μm)	Filter size (mm)
Mixed cellulose esters	MF-Millipore	Hydrophilic	0.45	25
Polycarbonate	Sterlitech	Hydrophilic	0.4	25
Polyester	Sterlitech	Hydrophilic	0.4	25
Glass Fiber	Sterlitech	-	0.4	47
Polypropylene	Sterlitech	Hydrophobic	0.2	25
Silver	Sterlitech	Hydrophilic	0.2	25

Table S 2. Filtration recovery of target compounds from spiked purified water sample (200 µg L⁻¹) for various filter types with polypropylenes tube (n=3). Values in the rows with the same letters, are not statistically different (n = 3; p < 0.05 level using a Tukey's-b post hoc test)

Compounds	Polypropylene tube					
	Silver	Polypropylene	Polyester	Glass fiber	Polycarbonate	Mixed cellulose ester
ATZ	107 ± 14 ^a	98 ± 4 ^a	103 ± 1 ^a	99 ± 5 ^a	101 ± 6 ^a	96 ± 9 ^a
DEA	78 ± 9 ^a	86 ± 9 ^{ab}	75 ± 1 ^a	108 ± 9 ^{ac}	101 ± 2 ^{abc}	114 ± 5 ^{ac}
E2	106 ± 12 ^d	56 ± 6 ^a	95 ± 5 ^{bcd}	98 ± 1 ^{cd}	74 ± 11 ^{ab}	81 ± 11 ^{bc}
EE2	65 ± 1 ^b	40 ± 10 ^a	104 ± 6 ^c	96 ± 1 ^c	97 ± 17 ^c	91 ± 17 ^c
NOR	73 ± 6 ^b	44 ± 8 ^a	94 ± 1 ^c	93 ± 5 ^{bc}	92 ± 4 ^{bc}	88 ± 15 ^{bc}
PROG	71 ± 1 ^b	98 ± 2 ^c	84 ± 10 ^{bc}	101 ± 14 ^c	95 ± 12 ^c	24 ± 3 ^a
MPROG	60 ± 1 ^a	86 ± 10 ^{bc}	74 ± 4 ^b	91 ± 3 ^c	76 ± 7 ^{bc}	90 ± 6 ^c
LEVO	59 ± 1 ^a	100 ± 3 ^{cd}	87 ± 8 ^{bc}	110 ± 4 ^d	79 ± 5 ^b	88 ± 9 ^{bc}
CBZ	102 ± 12 ^b	86 ± 1 ^a	97 ± 1 ^{ab}	97 ± 1 ^{ab}	100 ± 4 ^{ab}	91 ± 6 ^{ab}
CAF	107 ± 11 ^a	99 ± 3 ^a	99 ± 3 ^a	101 ± 9 ^a	99 ± 3 ^a	96 ± 5 ^a
SMX	63 ± 14 ^a	96 ± 9 ^b	100 ± 7 ^b	98 ± 4 ^b	100 ± 10 ^b	102 ± 6 ^b
DCF	78 ± 16 ^a	105 ± 8 ^a	89 ± 12 ^a	94 ± 10 ^a	91 ± 11 ^a	87 ± 16 ^a

Table S 3. Filtration recovery of target compounds from spiked purified water sample (200 µg L⁻¹) for various filter types with silanized glass tube (n=3). Values in the rows with the same letters, are not statistically different (n = 3; p < 0.05 level using a Tukey's-b post hoc test).

Compounds	Silanized glass tube					
	Silver	Polypropylene	Polyester	Glass fiber	Polycarbonate	Mixed cellulose ester
ATZ	101 ± 2 ^a	101 ± 1 ^a	98 ± 3 ^a	97 ± 8 ^a	98 ± 8 ^a	90 ± 7 ^a
DEA	78 ± 12 ^{ab}	83 ± 6 ^{ab}	62 ± 6 ^a	96 ± 19 ^b	105 ± 15 ^b	108 ± 10 ^b
E2	93 ± 1 ^a	92 ± 2 ^a	97 ± 2 ^a	95 ± 7 ^a	84 ± 14 ^a	77 ± 10 ^a
EE2	74 ± 5 ^a	83 ± 3 ^a	92 ± 3 ^a	89 ± 2 ^a	92 ± 17 ^a	96 ± 14 ^a
NOR	85 ± 5 ^a	83 ± 7 ^a	94 ± 1 ^a	93 ± 3 ^a	90 ± 12 ^a	83 ± 5 ^a
PROG	91 ± 1 ^c	72 ± 12 ^b	97 ± 8 ^c	103 ± 4 ^c	106 ± 5 ^c	45 ± 8 ^a
MPROG	84 ± 1 ^a	84 ± 5 ^a	92 ± 8 ^a	88 ± 6 ^a	109 ± 8 ^b	92 ± 7 ^a
LEVO	77 ± 1 ^a	80 ± 8 ^{ab}	93 ± 7 ^{ab}	96 ± 13 ^{ab}	99 ± 7 ^b	91 ± 5 ^{ab}
CBZ	96 ± 9 ^a	93 ± 2 ^a	94 ± 2 ^a	92 ± 3 ^a	97 ± 6 ^a	93 ± 5 ^a
CAF	103 ± 5 ^a	97 ± 1 ^a	105 ± 1 ^a	101 ± 5 ^a	103 ± 5 ^a	100 ± 6 ^a
SMX	98 ± 8 ^{ab}	105 ± 9 ^{ab}	114 ± 5 ^b	101 ± 4 ^{ab}	89 ± 4 ^a	91 ± 12 ^a
DCF	69 ± 5 ^a	100 ± 14 ^b	71 ± 4 ^a	75 ± 5 ^a	87 ± 9 ^{ab}	100 ± 12 ^b

Table S 4. Filtration recovery of target compounds from spiked purified water sample (200 µg L⁻¹) for various filter types with glass tube (n=3). Values in the rows with the same letters, are not statistically different (n = 3; p < 0.05 level using a Tukey's-b post hoc test).

Compounds	Glass tube					
	Silver	Polypropylene	Polyester	Glass fiber	Polycarbonate	Mixed cellulose ester
ATZ	106 ± 5 ^b	109 ± 1 ^b	112 ± 2 ^b	107 ± 4 ^b	79 ± 2 ^a	74 ± 5 ^a
DEA	105 ± 1 ^a	95 ± 21 ^a	91 ± 13 ^a	107 ± 13 ^a	98 ± 15 ^a	75 ± 4 ^a
E2	97 ± 1 ^b	78 ± 6 ^a	101 ± 1 ^b	95 ± 3 ^b	81 ± 2 ^a	101 ± 5 ^b
EE2	88 ± 3 ^{bc}	64 ± 6 ^a	93 ± 7 ^{bc}	92 ± 5 ^{bc}	81 ± 10 ^{ab}	102 ± 11 ^c
NOR	100 ± 2 ^{bc}	77 ± 2 ^a	110 ± 3 ^{bc}	114 ± 10 ^c	91 ± 10 ^{ab}	95 ± 13 ^{abc}
PROG	81 ± 1 ^b	87 ± 9 ^{bc}	94 ± 8 ^{bc}	101 ± 5 ^{bc}	106 ± 14 ^c	7 ± 1 ^a
MPROG	74 ± 1 ^b	76 ± 12 ^b	88 ± 4 ^{bc}	98 ± 4 ^c	88 ± 12 ^{bc}	54 ± 4 ^a
LEVO	73 ± 1 ^a	87 ± 8 ^{ab}	91 ± 10 ^{ab}	105 ± 1 ^b	89 ± 6 ^{ab}	86 ± 10 ^a
CBZ	96 ± 9 ^a	93 ± 2 ^a	94 ± 2 ^a	92 ± 3 ^a	97 ± 6 ^a	93 ± 5 ^a
CAF	98 ± 3 ^{ab}	100 ± 1 ^{ab}	100 ± 6 ^{ab}	101 ± 5 ^b	93 ± 6 ^{ab}	87 ± 7 ^a
SMX	106 ± 11 ^b	111 ± 11 ^b	109 ± 7 ^b	108 ± 4 ^b	78 ± 5 ^a	75 ± 7 ^a
DCF	101 ± 9 ^b	103 ± 15 ^b	99 ± 5 ^b	113 ± 16 ^b	70 ± 6 ^a	71 ± 7 ^a

Table S 5. Filtrate fraction and fraction retained by 25mm-mixed cellulose esters filter for target compounds for different spiked samples (200 µg L⁻¹), (mean ± SD, n=3).

Compounds	Filtrate fraction (%)			Fraction retained by filter (%)		
	purified water	tap water	wastewater influent	purified water	tap water	wastewater influent
ATZ	95 ± 3	98 ± 5	108 ± 6	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.1
DEA	90 ± 9	95 ± 10	103 ± 2	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1
E2	94 ± 8	98 ± 11	103 ± 7	3.3 ± 0.6	3.6 ± 0.5	5.1 ± 0.5
EE2	98 ± 5	99 ± 7	106 ± 8	4.6 ± 0.5	3.9 ± 0.5	4.6 ± 0.6
NOR	95 ± 12	95 ± 9	98 ± 13	6.6 ± 0.6	5.3 ± 0.6	4.7 ± 1.0
PROG	44 ± 1	43 ± 7	47 ± 5	47.9 ± 4.8	58.2 ± 9.9	59.0 ± 6.5
MPROG	86 ± 11	75 ± 8	108 ± 11	20.7 ± 1.7	19.4 ± 2.7	34.2 ± 3.4
LEVO	79 ± 9	96 ± 8	111 ± 9	8.1 ± 1.1	7.6 ± 1.1	7.1 ± 1.5
CBZ	103 ± 6	98 ± 4	99 ± 7	2.8 ± 0.3	2.4 ± 0.3	2.3 ± 0.2
CAF	99 ± 3	103 ± 6	103 ± 3	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1
SMX	104 ± 3	106 ± 5	93 ± 9	1.2 ± 0.2	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1
DCF	112 ± 7	99 ± 10	107 ± 7	3.1 ± 0.5	1.1 ± 0.3	1 ± 0.2

Extraction of membrane filters with acetonitrile in polypropylene tube.

Table S 6. Filtrate fraction and fraction retained by 25mm-Polyester membrane filter for target compounds for different spiked samples (200 µg L⁻¹), (mean ± SD, n=3).

Compounds	Filtrate fraction (%)			Fraction retained by filter (%)		
	purified water	tap water	wastewater influent	purified water	tap water	wastewater influent
ATZ	85 ± 3	106 ± 7	100 ± 5	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1
DEA	90 ± 4	108 ± 2	91 ± 6	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
E2	94 ± 10	104 ± 5	101 ± 5	0.4 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.4 ± 0.1
EE2	91 ± 9	114 ± 6	103 ± 4	0.7 ± 0.1	1.5 ± 0.2	2.1 ± 0.1
NOR	80 ± 6	100 ± 9	102 ± 6	1.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1
PROG	84 ± 10	74 ± 2	87 ± 5	0.3 ± 0.1	4.4 ± 0.5	6.3 ± 0.9
MPROG	74 ± 4	108 ± 2	97 ± 3	0.6 ± 0.1	2.0 ± 0.2	2.1 ± 0.2
LEVO	87 ± 7	95 ± 3	104 ± 5	0.6 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.1
CBZ	102 ± 5	104 ± 8	103 ± 2	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
CAF	100 ± 2	99 ± 1	94 ± 4	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
SMX	104 ± 7	85 ± 5	104 ± 9	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1
DCF	105 ± 12	98 ± 7	84 ± 1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1

Extraction of membrane filters with methanol/acetone 3-1 in polypropylene tube.

Table S 7. Filtrate fraction and fraction retained by 25mm-glass fiber membrane filter for target compounds for different spiked samples (200 µg L⁻¹), (mean ± SD, n=3).

Compounds	Filtrate fraction (%)			Fraction retained by filter (%)		
	purified water	tap water	wastewater influent	purified water	tap water	wastewater influent
ATZ	105 ± 6	122 ± 5	107 ± 15	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.1
DEA	109 ± 3	120 ± 4	103 ± 2	0.3 ± 0.1	1.4 ± 0.3	1.9 ± 0.1
E2	106 ± 5	101 ± 2	98 ± 7	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.8 ± 0.1
EE2	101 ± 5	103 ± 4	98 ± 6	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.2 ± 0.1
NOR	97 ± 4	102 ± 6	99 ± 10	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.9 ± 0.1
PROG	101 ± 14	96 ± 9	115 ± 4	0.4 ± 0.1	1.7 ± 0.2	2.2 ± 0.2
MPROG	91 ± 3	99 ± 7	109 ± 8	0.2 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.1
LEVO	110 ± 4	104 ± 7	108 ± 1	0.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.1 ± 0.1
CBZ	105 ± 2	103 ± 2	100 ± 8	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.1
CAF	108 ± 2	94 ± 4	94 ± 7	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.8 ± 0.1
SMX	106 ± 3	104 ± 9	89 ± 9	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1	1.0 ± 0.2
DCF	94 ± 10	103 ± 9	81 ± 7	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.1

Extraction of membrane filters with methanol/acetone 3-1 in polypropylene tube.

Table S 8. Extraction recovery of target compounds from spiked suspended matter from municipal wastewaters samples filtered through glass fiber filter in replicate (n=3; 300 ng g⁻¹). Values in the rows with the same letters, are not statistically different (n = 3; p < 0.05 level using a Tukey's-b post hoc test).

Compounds	Recovery (%)						
	Methanol 100%	Acetonitrile 100%	Acetone 100%	Ethyl acetate 100%	Methanol / Acetone (1:3 v/v)	Methanol / Acetone (1:1 v/v)	Methanol / Acetone (3:1 v/v)
ATZ	93 ± 3 ^{bc}	76 ± 1 ^a	100 ± 1 ^{cd}	130 ± 3 ^e	89 ± 5 ^{bc}	81 ± 3 ^{ab}	108 ± 9 ^d
DEA	105 ± 7 ^{bc}	88 ± 9 ^{ab}	103 ± 5 ^{bc}	118 ± 7 ^c	80 ± 9 ^a	71 ± 1 ^a	103 ± 7 ^{bc}
E2	72 ± 9 ^{bc}	25 ± 1 ^a	88 ± 1 ^{bc}	96 ± 20 ^c	97 ± 6 ^c	64 ± 6 ^b	70 ± 7 ^b
EE2	62 ± 8 ^a	73 ± 9 ^a	87 ± 12 ^b	82 ± 6 ^a	83 ± 20 ^a	59 ± 9 ^a	81 ± 11 ^a
NOR	90 ± 8 ^{cd}	79 ± 20 ^{bcd}	69 ± 10 ^{abc}	105 ± 5 ^d	46 ± 8 ^a	56 ± 9 ^{ab}	92 ± 9 ^{cd}
PROG	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
MPROG	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
LEVO	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
CBZ	106 ± 7 ^{bcd}	76 ± 4 ^a	110 ± 17 ^{cd}	113 ± 5 ^c	84 ± 7 ^{ab}	75 ± 11 ^a	88 ± 1 ^{abc}
CAF	97 ± 7 ^b	92 ± 8 ^{ab}	93 ± 2 ^{ab}	122 ± 8 ^c	83 ± 6 ^{ab}	78 ± 3 ^a	87 ± 1 ^{ab}
SMX	95 ± 15 ^{bc}	89 ± 10 ^{abc}	127 ± 9 ^d	111 ± 1 ^{cd}	86 ± 7 ^{ab}	70 ± 7 ^a	77 ± 7 ^{ab}
DCF	60 ± 12 ^{bc}	40 ± 7 ^a	51 ± 2 ^{ab}	74 ± 4 ^c	47 ± 10 ^{ab}	40 ± 2 ^a	62 ± 5 ^{bc}

nd: Not determined.

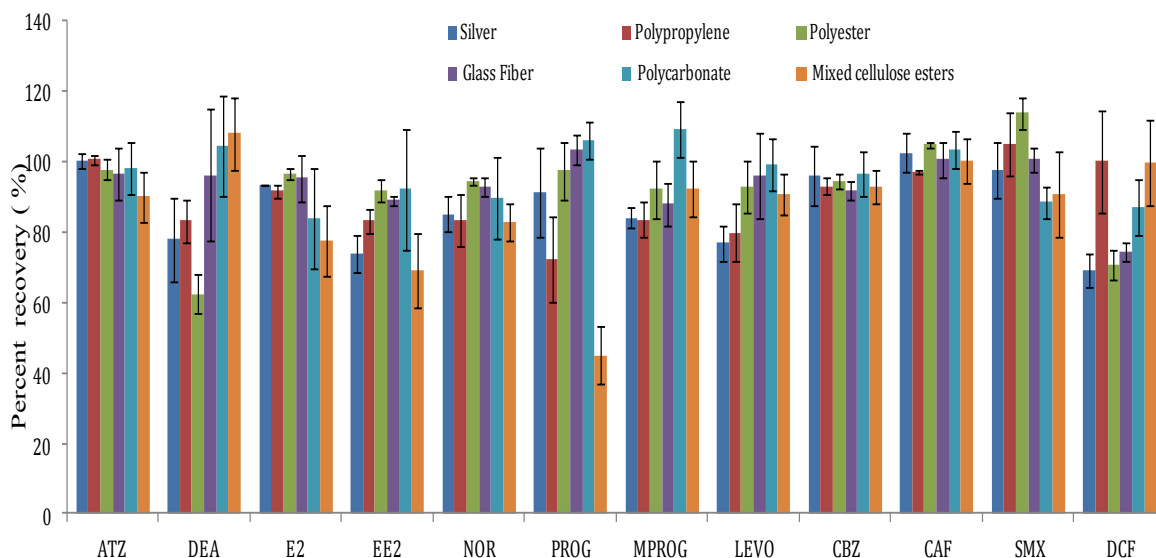


Figure S 1. Filtration recovery of target compounds from spiked purified water sample ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) for various filter types with silanized glass tube ($n=3$). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements.

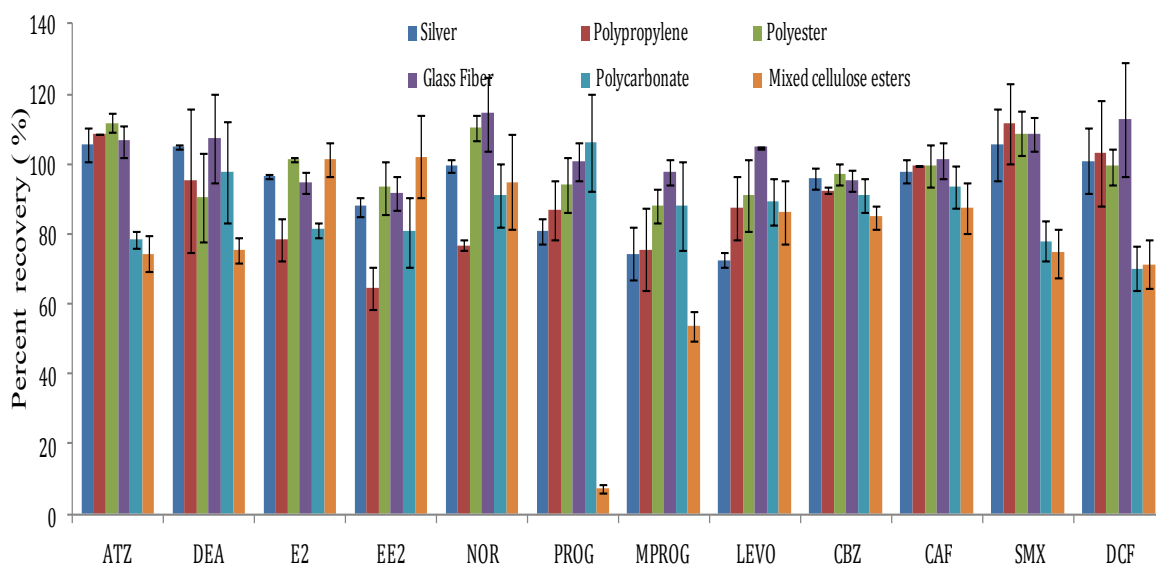


Figure S 2. Filtration recovery of target compounds from spiked purified water sample ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) for various filter types with glass tube ($n=3$). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements.

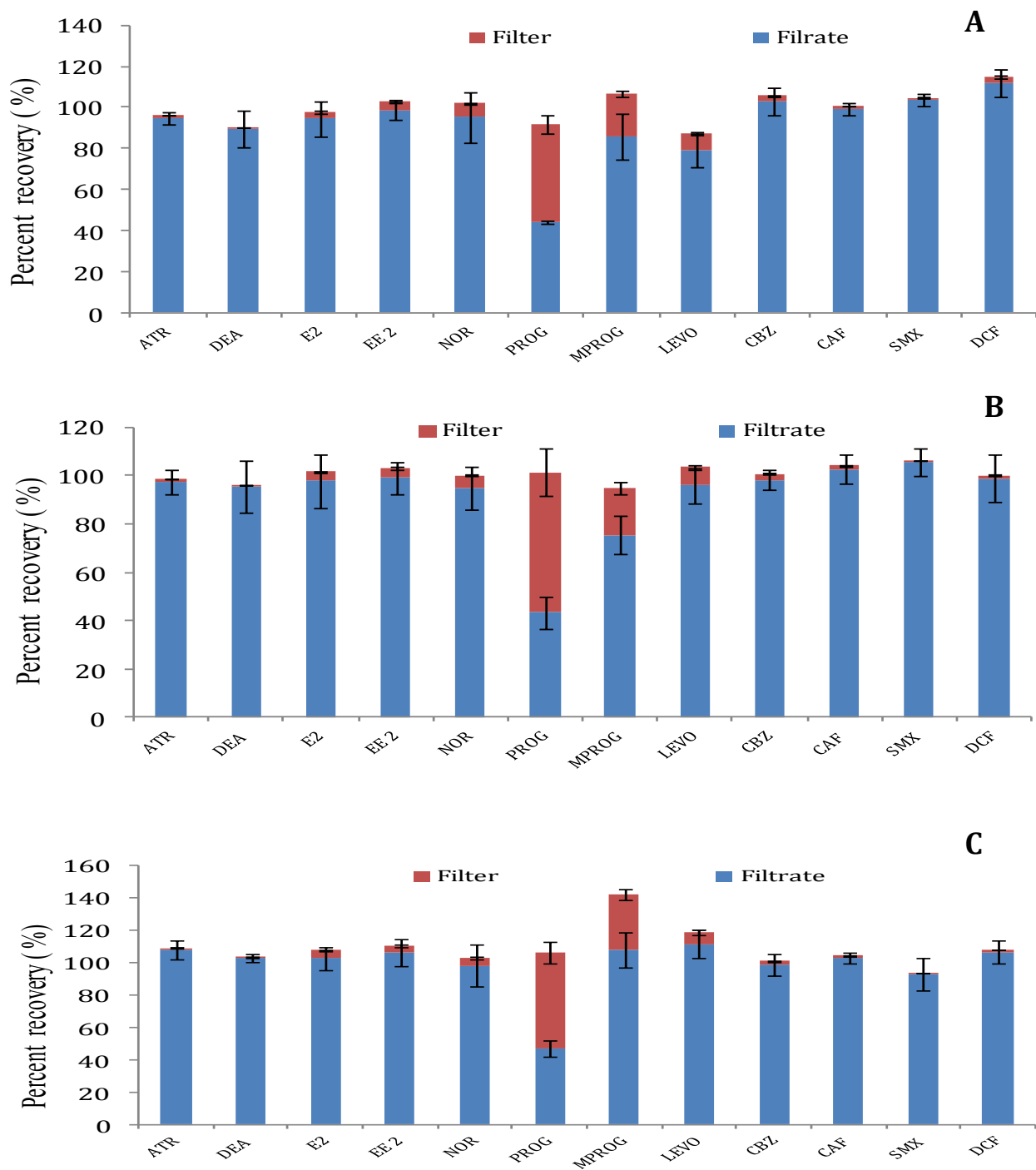


Figure S 3. Partition for target compounds between filtrate phase of different spiked samples ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) and 25mm-mixed cellulose esters membrane filter ($0.45 \mu\text{m}$) ($n=3$). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements. **A** purified water, **B** tap water, **C** Wastewater influent.

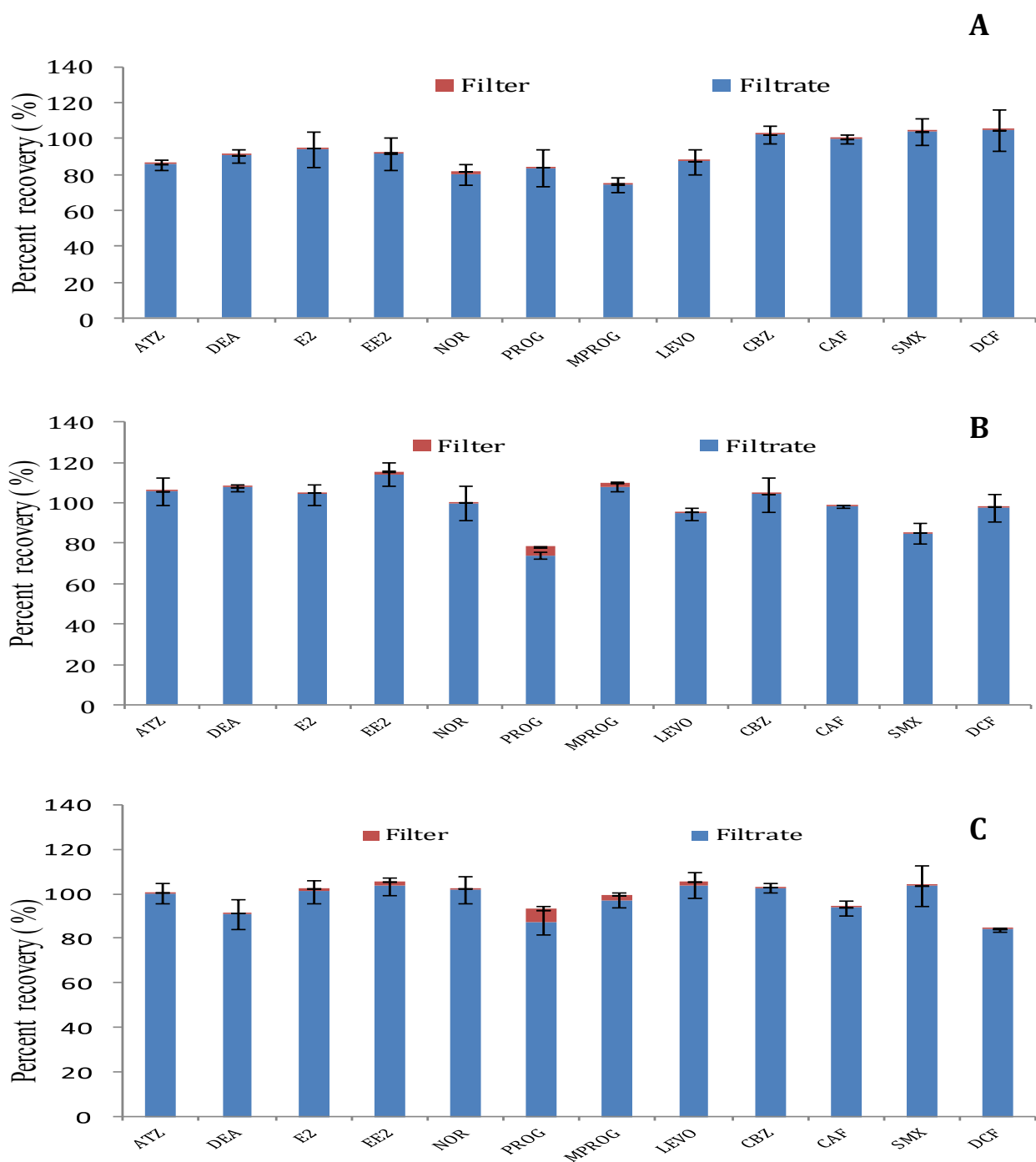


Figure S 4. Partition for target compounds between filtrate phase of different spiked samples ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) and 25mm-Polyester membrane filter ($0.4 \mu\text{m}$) ($n=3$). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements. **A** purified water, **B** tap water, **C** wastewater influent.

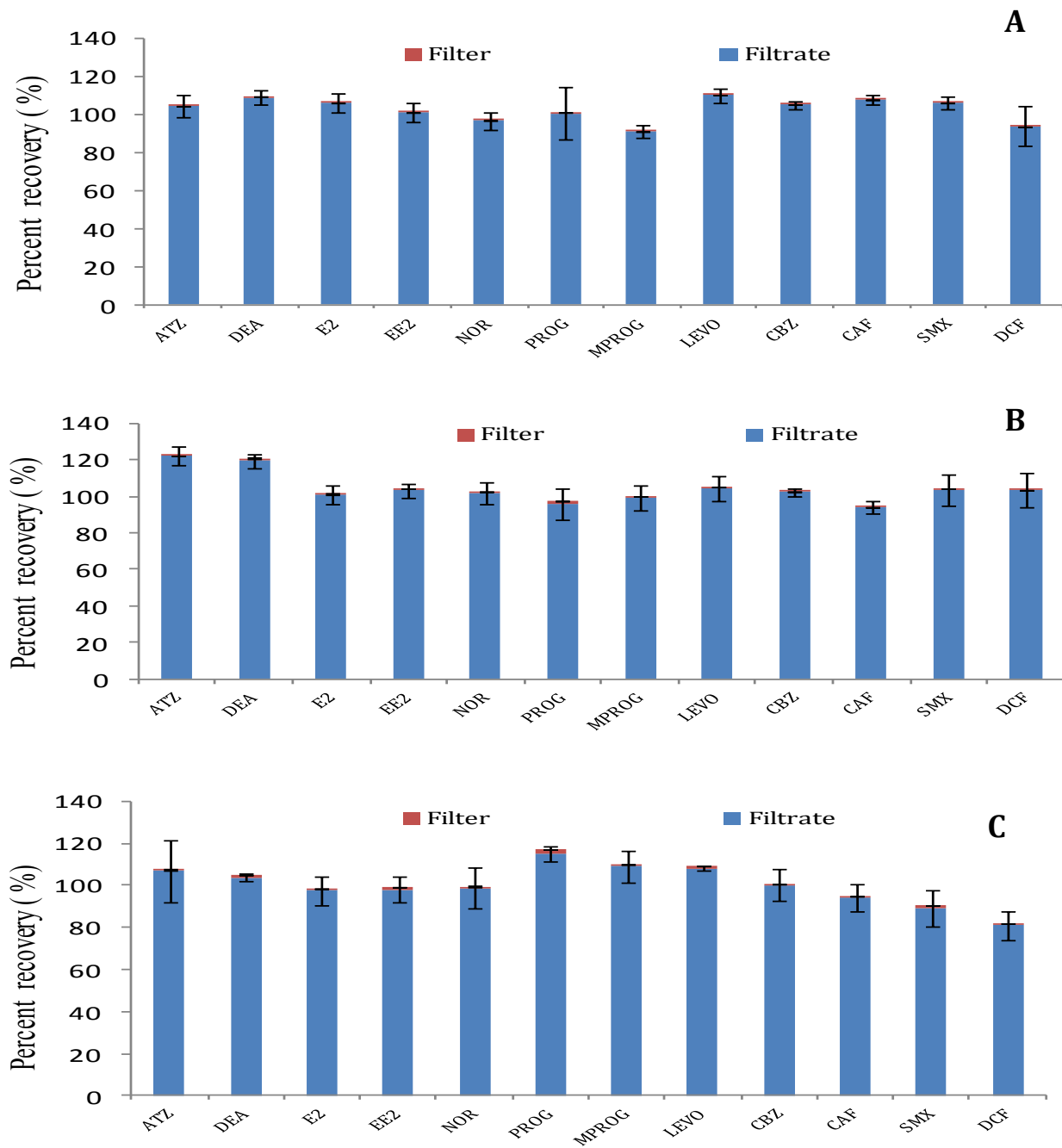


Figure S 5. Partition for target compounds between filtrate phase of different spiked samples ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) and 25mm-glass fiber membrane filter ($0.4 \mu\text{m}$) ($n=3$). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements. **A** purified water, **B** tap water, **C** wastewater influent.

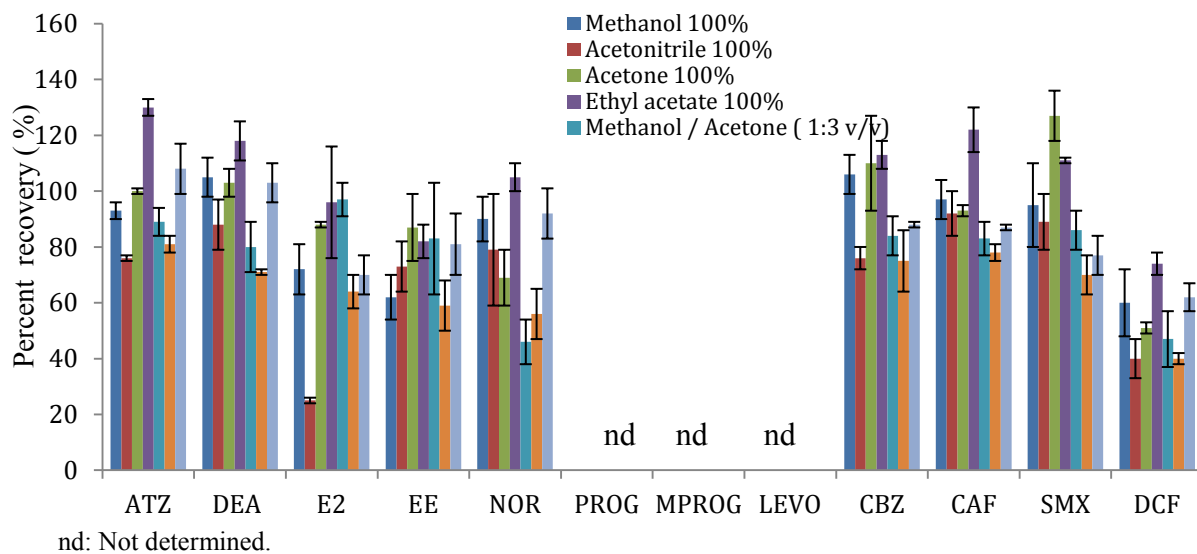


Figure S 6. Extraction recovery of target compounds from spiked suspended matter from municipal wastewaters samples filtered through glass fiber filter in replicate (n=3; 300 ng g⁻¹). Error bars represent standard deviations of triplicate measurements.

Chapitre 8. Conclusion

Le problème des contaminants d'intérêt émergents (CIE) apparaît actuellement comme un souci majeur pour l'environnement et la santé humaine. Un important intérêt médiatique est associé à cette problématique. La capacité d'élimination des contaminants émergents dépend de divers facteurs. La sorption de matières en suspension dans les eaux usées, les boues d'épuration et les particules en suspension est un aspect trop souvent négligé de l'étude des CIE. L'élimination ultérieure des CIE par sédimentation est pertinente pour les substances lipophiles et certains composés hydrophiles qui peuvent interagir de manière spécifique.

Dans ce contexte, il est critique d'accroître nos connaissances sur la présence de tous les contaminants dans les matières en suspension, afin d'évaluer correctement les sources potentielles de ces composés qui pénètrent dans l'environnement et d'espérer fournir un bilan de masse raisonnable qui pourrait servir à paramétrer des modèles de devenir environnemental. Le présent travail avait comme principal objectif le développement d'une méthode appropriée pour la détermination de 12 composés cibles comprenant des produits pharmaceutiques, des hormones et des pesticides dans des matières en suspension et des sédiments dans divers matrices solides et particulières. Le second objectif de ce travail était d'évaluer la performance de filtration pour discerner le potentiel de sorption des CIEs dissous sur le filtre et ainsi sélectionner l'option la plus appropriée pour nos analytes cibles.

Le protocole proposé dans le chapitre 7 est basé sur la combinaison d'une extraction par ultrasons et une extraction en phase solide (SPE) comme étape de purification et d'analyse ultrarapides des extraits obtenus à l'aide de la LDTD-APCI-MS/MS. Le filtre en fibres de verre a été choisi comme le meilleur choix pour la filtration de nos composés cibles avec moins de pertes par sorption sur la matière filtrante et avec une grande capacité de filtration avant colmatage. La méthode développée repose sur une approche analytique multi-résidus, basée sur l'extraction en deux cycles par ultrasons combinés avec une étape de nettoyage avec cartouche de type C18. Elle a montré de bonnes performances et des recouvrements de tous les composés variant entre 38 à 112% dans toutes les matrices étudiées, les recouvrements les plus bas ont été obtenus pour les médicaments antibiotiques (SMX et DCF). Les limites de détection des méthodes pour 12 analytes ont été de 0,1

à $9,4 \text{ ng g}^{-1}$ pour les sédiments de fond et de SPM de rivières et $21\text{-}92 \text{ ng g}^{-1}$ pour le SPM à partir d'échantillons d'eaux usées. L'application de cette méthode à l'analyse d'échantillons réels démontre des niveaux détectables des analytes cibles dans presque tous les échantillons analysés, y compris les sédiments de rivière, les SPM d'une rivière touchée par les effluents municipaux et de SPM provenant d'échantillons d'eaux usées avant et après un traitement de décantation primaire. Les résultats ont confirmé la présence généralisée des contaminants émergents dans les matières en suspension dans les rivières et les échantillons d'eaux usées municipales. Les classes de contaminants les plus abondantes étaient les hormones et certains médicaments, en soulignant leur forte affinité pour les solides. Les résultats ont également souligné l'importance d'analyser à la fois les phases dissoute et particulaire afin d'évaluer correctement ces contaminants environnementaux. L'intégration de l'analyse des fractions particulières permettra une bonne approche du bilan massique pour modéliser les mécanismes d'élimination physico-chimiques des CIE dans les stations d'épuration. En termes de perspectives générales à cette méthode, l'application à l'étude du fractionnement des contaminants émergent entre différentes phases (dissous particulaire et solide) sera très intéressante, afin de comprendre le devenir et le comportement des contaminants émergents dans les stations d'épuration et dans les écosystèmes récepteurs, sols et milieux aquatiques.

Bibliographie

Aboulfadl, K., De Potter, C., Prévost, M., Sauvé, S., 2010. Time-dependent integrity during storage of natural surface water samples for the trace analysis of pharmaceutical products, feminizing hormones and pesticides. *Chemistry Central Journal* 4, 10.

Ahrer, W., Scherwenk, E., Buchberger, W., 2001. Determination of drug residues in water by the combination of liquid chromatography or capillary electrophoresis with electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 910, 69-78.

Alda, M., Barceló, D., 2001. Review of analytical methods for the determination of estrogens and progestogens in waste waters. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 371, 437-447.

Ali, M., Baugh, P.J., 2003. Pyrethroid soil extraction, properties of mixed solvents and time profiles using GC/MS-NICI analysis. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 83, 909-922.

Amelung, W., Nikolakis, A., Laabs, V., 2007. Multiresidue determination of pesticides in acid-clay soils from Thailand. *Journal of AOAC International* 90, 1659-1669.

Anna, A., 2012. Natural hormones in food-producing and analytical implications. *Food Production - Approaches, Challenges and Tasks*. InTech, p. 270.

Auriol, M., Auriol, Y., Filali Meknassi, R., Tyagi, C., Adams, R., 2006. Endocrine disrupting compounds removal from wastewater, a new challenge. *Process Biochemistry* 41, 525-539.

Baker, D.R., Kasprzyk-Hordern, B., 2011. Multi-residue determination of the sorption of illicit drugs and pharmaceuticals to wastewater suspended particulate matter using pressurised liquid extraction, solid phase extraction and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1218, 7901-7913.

Balmat, J.L., 1957. Biochemical oxidation of various particulate fractions of sewage. *Sewage and Industrial Wastes* 29, 757-761.

Barcelo, D., 2003. Emerging pollutants in water analysis. *TrAC. Trends in Analytical Chemistry* 22.

Barco-Bonilla, N., Romero-González, R., Plaza-Bolaños, P., Garrido Frenich, A., Martínez Vidal, J.L., 2010. Analysis and study of the distribution of polar and non-polar pesticides in wastewater effluents from modern and conventional treatments. *Journal of Chromatography A* 1217, 7817-7825.

Behrooz, R.D., Sari, A.E., Bahramifar, N., Ghasempouri, S.M., 2009. Organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues in human milk from the Southern Coast of Caspian Sea, Iran. *Chemosphere* 74, 931-937.

Bendz, D., Paxéus, N.A., Ginn, T.R., Loge, F.J., 2005. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials* 122, 195-204.

- Berrueta, L.A., Gallo, B., Vicente, F., 1995. A review of solid phase extraction: Basic principles and new developments. *Chromatographia* 40, 474-483.
- Birkett, J.W., Lester, J.N., 2003. Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes. Lewis Pub.
- Blackwell, P.A., Holten Lützhøft, H.-C., Ma, H.-P., Halling-Sørensen, B., Boxall, A.B.A., Kay, P., 2004. Ultrasonic extraction of veterinary antibiotics from soils and pig slurry with SPE clean-up and LC–UV and fluorescence detection. *Talanta* 64, 1058-1064.
- Boisvert, M., Fayad, P.B., Sauvé, S., 2012. Development of a new multi-residue laser diode thermal desorption atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry method for the detection and quantification of pesticides and pharmaceuticals in wastewater samples. *Analytica Chimica Acta* 754, 75-82.
- Bokman, F.C., 2002. Analytical aspects of atmospheric pressure ionisation in mass spectrometry *Acta Universitatis Upsaliensis*.
- Boxall, A.B.A., Blackwell, P., Cavallo, R., Kay, P., Tolls, J., 2002. The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. *Toxicology Letters* 131, 19-28.
- Boyd, G.R., Reemtsma, H., Grimm, D.A., Mitra, S., 2003. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *Science of The Total Environment* 311, 135-149.
- Brossa, L., Marcé, R.M., Borrull, F., Pocurull, E., 2005. Determination of endocrine disruptors in environmental water samples by stir bar sorptive extraction-liquid desorption - large volume injection-gas chromatography. *Chromatographia* 61, 61-65.
- Buffle, J., Perret, D., Newman, M., 1992. The use of filtration and ultrafiltration for size fractionation of aquatic particles colloids and macromolecules, *International Union of Pure and Applied Chemistry, Environmental Analytical and Physical Chemistry Series*.
- Calamari, D., Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., 2003. Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and lambro in northern Italy. *Environmental Science & Technology* 37, 1241-1248.
- Camacho-Muñoz, D., Martín, J., Santos, J.L., Aparicio, I., Alonso, E., 2009. An affordable method for the simultaneous determination of the most studied pharmaceutical compounds as wastewater and surface water pollutants. *J. Sep. Sci.* 32, 3064-3073.
- Capone, D.G., Weston, D.P., Miller, V., Shoemaker, C., 1996. Antibacterial residues in marine sediments and invertebrates following chemotherapy in aquaculture. *Aquaculture* 145, 55-75.
- Casas, V., Llombart, M., Garcia-Jares, C., Cela, R., Dagnac, T., 2007. Effects of sample pretreatment and storage conditions in the determination of pyrethroids in water samples by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387, 1841-1849.

- Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., Pomati, F., Calamari, D., Zuccato, E., 2005. Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environmental Science & Technology* 40, 357-363.
- Catastini, C., Mullet, J.-U., Boukari, S., Mazellier, P., Levi, Y., Cervantes, P., Ormsby, J.-N., 2008. Identification de molécules anticancéreuses dans les effluents hospitaliers. *European Journal of Water Quality* 39, 171-180.
- Cha, J.M., Yang, S., Carlson, K.H., 2006. Trace determination of β -lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1115, 46-57.
- Chen, L., Song, D., Tian, Y., Ding, L., Yu, A., Zhang, H., 2008. Application of on-line microwave sample-preparation techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 27, 151-159.
- Chenxi, W., Spongberg, A.L., Witter, J.D., 2008. Determination of the persistence of pharmaceuticals in biosolids using liquid-chromatography tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 73, 511-518.
- Choi, K., Kim, Y., Jung, J., Kim, M.H., Kim, C.S., Kim, N.H., Park, J., 2008. Occurrences and ecological risks of roxithromycin, trimethoprim, and chloramphenicol in the Han River, Korea. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 711-719.
- Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N., Kroiss, H., 2005. Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Research* 39, 4797-4807.
- Colborn, T., 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives* 101.
- Cravotto, G., Boffa, L., Mantegna, S., Perego, P., Avogadro, M., Cintas, P., 2008. Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry* 15, 898-902.
- Daughton, C.G., 2004. Non-regulated water contaminants: emerging research. *Environmental Impact Assessment Review* 24, 711-732.
- Daughton, C.G., Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives* 107 Suppl 6, 907-938.
- Daves, G.D., 1979. Mass spectrometry of involatile and thermally unstable molecules. *Accounts of Chemical Research* 12, 359-365.
- Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., 2005. LC-MS2 trace analysis of antimicrobials in water, sediment and soil. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 24, 645-657.
- Dikeman, M.E., 2007. Effects of metabolic modifiers on carcass traits and meat quality. *Meat Science* 77, 121-135.
- Dizerega, G.S., Barber, D.L., Hodgen, G.D., 1980. Endometriosis: role of ovarian steroids in initiation, maintenance, and suppression. *Fertility and Sterility* 33, 649-653.

- Dodd, M.C., Huang, C.H., 2004. Transformation of the antibacterial Agent sulfamethoxazole in reactions with chlorine: kinetics, mechanisms, and pathways. *Environmental Science & Technology* 38, 5607-5615.
- Donn, J., Mendoza, M., Pritchard, J., 2008. Pharmaceuticals found in drinking water, affecting wildlife and maybe humans. The Associated Press.
- Dzidic, I., Carroll, D.I., Stillwell, R.N., Horning, E.C., 1976. Comparison of positive ions formed in nickel-63 and corona discharge ion sources using nitrogen, argon, isobutane, ammonia and nitric oxide as reagents in atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 48, 1763-1768.
- El Shenawy, N., 2010. Comparing the passive and active sampling devices with biomonitoring of pollutants in Langstone and Portsmouth Harbour, UK. *Journal of Environmental Science and Technology* 3, 1.
- Esteve-Turrillas, F.A., Aman, C.S., Pastor, A., de la Guardia, M., 2004. Microwave-assisted extraction of pyrethroid insecticides from soil. *Analytica Chimica Acta* 522, 73-78.
- Farré, M., Pérez, S., Kantiani, L., Barceló, D., 2008. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 27, 991-1007.
- Fayad, P.B., Prévost, M.I., Sauvé, S., 2009. Laser diode thermal desorption/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry analysis of selected steroid hormones in wastewater: Method optimization and application. *Analytical Chemistry* 82, 639-645.
- Fritz, J.S., Macka, M., 2000. Solid-phase trapping of solutes for further chromatographic or electrophoretic analysis. *Journal of Chromatography A* 902, 137-166.
- Gerber, H.R., Anderson, J.P.E., Bügel-Mogensen, B., Castle, D., Domsch, K.H., Malkomes, H.P., Somerville, L., Arnold, D.J., Van De Werf, H., Verbeken, R., Vonk, J.W., 1991. 1989 Revision of recommended laboratory tests for assessing side-effects of pesticides on the soil microflora. *Toxicological & Environmental Chemistry* 30, 249-261.
- Giorgino, M.J., Rasmussen, R.B., Pfeifle, C.M., 2007. Occurrence of organic wastewater compounds in selected surface-water supplies, Triangle Area of North Carolina, 2002-2005: U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report 2007-5054, 28 p., .
- Glotfelty, D., Glotfelty, A., Taylor, B., Turner, W., 1984. Volatilization of surface-applied pesticides from fallow soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 32, 638-643.
- Göbel, A., Mc Ardell, C.S., Suter, M.J.F., Giger, W., 2004. Trace determination of macrolide and sulfonamide antimicrobials, a human sulfonamide metabolite, and trimethoprim in wastewater using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 76, 4756-4764.
- 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.

- Guo, L., Lehner, J.K., White, D.M., Garland, D.S., 2003. Heterogeneity of natural organic matter from the Chena River, Alaska. *Water Research* 37, 1015-1022.
- Hájková, K., Pulkrabová, J., Schůrek, J., Hajšlová, J., Poustka, J., Nápravníková, M., Kocourek, V., 2007. Novel approaches to the analysis of steroid estrogens in river sediments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387, 1351-1363.
- Haller, M.Y., Müller, S.R., McArdell, C.S., Alder, A.C., Suter, M.J.F., 2002. Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 952, 111-120.
- Halling-Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H.C., Jørgensen, S.E., 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere* 36, 357-393.
- Halling-Sørensen, B., Sengeløv, G., Tjørnelund, J., 2002. Toxicity of tetracyclines and tetracycline degradation products to environmentally relevant bacteria, including selected tetracycline-resistant bacteria. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 42, 263-271.
- Hamscher, G., Sczesny, S., Höper, H., Nau, H., 2002. Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 74, 1509-1518.
- Hanold, K.A., Fischer, S.M., Cormia, P.H., Miller, C.E., Syage, J.A., 2004. Atmospheric pressure photoionization. 1. general properties for LC/MS. *Analytical Chemistry* 76, 2842-2851.
- Hanselman, T.A., Graetz, D.A., Wilkie, A.C., 2003. Manure-borne estrogens as potential environmental contaminants: A Review. *Environmental Science & Technology* 37, 5471-5478.
- Hansen, P.D., Dizer, H., Hock, B., Marx, A., Sherry, J., McMaster, M., Blaise, C., 1998. Vitellogenin – a biomarker for endocrine disruptors. *TrAC, Trends Anal. Chem.* 17, 448-451.
- Haygarth, P.M., Sharpley, A.N., 2000. Terminology for phosphorus transfer. *Journal of Environmental Quality* 29, 10-15.
- Heberer, T., 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters* 131, 5-17.
- Hernández, F., Sancho, J.V., Ibáñez, M., Guerrero, C., 2007. Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 26, 466-485.
- Hernando, M.D., Petrovic, M., Fernández-Alba, A.R., Barceló, D., 2004. Analysis by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for β -blockers and lipid-regulating agents in wastewater samples. *Journal of Chromatography A* 1046, 133-140.
- Hess-Wilson, J.K., Knudsen, K.E., 2006. Endocrine disrupting compounds and prostate cancer. *Cancer Letters* 241, 1-12.

Heukelekian, H., Balmat, J.L., 1959. Chemical composition of the particulate fractions of domestic sewage. *Sewage and Industrial Wastes* 31, 413-423.

Hignite, C., Azarnoff, D.L., 1977. Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: Chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sciences* 20, 337-341.

Hilton, M.J., 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. *Journal of Chromatography A* 1015, 129-141.

Holbrook, R.D., Love, N.G., Novak, J.T., 2004. Sorption of 17 β -Estradiol and 17 α -Ethinylestradiol by colloidal organic carbon derived from biological wastewater treatment systems. *Environmental Science & Technology* 38, 3322-3329.

Horning, E.C., Carroll, D.I., Dzidic, I., Haegele, K.D., Horning, M.G., Stillwell, R.N., 1974. Atmospheric pressure ionization (API) mass spectrometry. solvent-mediated ionization of samples introduced in solution and in a liquid chromatograph effluent stream. *Journal of Chromatographic Science* 12, 725-729.

Horning, E.C., Horning, M.G., Carroll, D.I., Dzidic, I., Stillwell, R.N., 1973. New picogram detection system based on a mass spectrometer with an external ionization source at atmospheric pressure. *Analytical Chemistry* 45, 936-943.

Hu, X., Zhou, Q., Luo, Y., 2010. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China. *Environmental Pollution* 158, 2992-2998.

Huang, C.H., Sedlak, D.L., 2001. Analysis of estrogenic hormones in municipal wastewater effluent and surface water using enzyme-linked immunosorbent assay and gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 133-139.

Huang, X., Gui, P., Qian, Y., 2001. Effect of sludge retention time on microbial behaviour in a submerged membrane bioreactor. *Process Biochemistry* 36, 1001-1006.

ICH, 2005. Pharmaceutical quality systems. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Chicago, USA.

Jacobsen, A.M., Halling-Sørensen, B., Ingerslev, F., Honoré Hansen, S., 2004. Simultaneous extraction of tetracycline, macrolide and sulfonamide antibiotics from agricultural soils using pressurised liquid extraction, followed by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1038, 157-170.

Jean-Noël, A., Jean-Marc, B., Alain, C., Jean-Joël Gril, Laurence, G., Philippe, L., Serge, S., Marc, V., Décembre 2005. Pesticides, agriculture et environnement ,Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux, rapport d'expertise.

Jelić, A., Petrović, M., Barceló, D., 2009. Multi-residue method for trace level determination of pharmaceuticals in solid samples using pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry. *Talanta* 80, 363-371.

Jobling, S., Jobling, R., Williams, A., Johnson, A., Taylor, M., Gross Sorokin, M., Nolan, C., Tyler, R., van Aerle, E., Santos, G., 2005. Predicted exposures to steroid estrogens in U.K. rivers correlate with widespread sexual disruption in wild fish populations. *Environmental Health Perspectives* 114, 32-39.

Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C.R., Brighty, G., Sumpter, J.P., 1998. Widespread sexual disruption in wild fish. *Environmental Science & Technology* 32, 2498-2506.

Johnson, A.C., Williams, R.J., Matthiessen, P., 2006. The potential steroid hormone contribution of farm animals to freshwaters, the United Kingdom as a case study. *Science of The Total Environment* 362, 166-178.

Joss, A., Zabczynski, S., Göbel, A., Hoffmann, B., Löffler, D., McArdell, C.S., Ternes, T.A., Thomsen, A., Siegrist, H., 2006. Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme. *Water Research* 40, 1686-1696.

Jürgens, M.D., Holthaus, K.I.E., Johnson, A.C., Smith, J.J.L., Hetheridge, M., Williams, R.J., 2002. The potential for estradiol and ethinylestradiol degradation in english rivers. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21, 480-488.

Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2007. Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography–positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1161, 132-145.

Khan, E., Subramania-Pillai, S., 2006. Effect of leaching from filters on laboratory analyses of collective organic constituents. *Proceedings of the Water Environment Federation 2006*, 901-918.

Kim, S., Eichhorn, P., Jensen, J.N., Weber, A.S., Aga, D.S., 2005. Removal of antibiotics in wastewater: Effect of hydraulic and solid retention times on the fate of tetracycline in the activated sludge process. *Environmental Science & Technology* 39, 5816-5823.

Kimura, K., Hara, H., Watanabe, Y., 2007. Elimination of selected acidic Pharmaceuticals from municipal wastewater by an activated sludge system and membrane bioreactors. *Environmental Science & Technology* 41, 3708-3714.

Kinney, C.A., Furlong, E.T., Kolpin, D.W., Burkhardt, M.R., Zaugg, S.D., Werner, S.L., Bossio, J.P., Benotti, M.J., 2008. Bioaccumulation of pharmaceuticals and other anthropogenic waste indicators in earthworms from agricultural soil amended with biosolid or swine manure. *Environmental Science & Technology* 42, 1863-1870.

Körner, W., Bolz, U., Süßmuth, W., Hiller, G., Schuller, W., Hanf, V., Hagenmaier, H., 2000. Input/output balance of estrogenic active compounds in a major municipal sewage plant in Germany. *Chemosphere* 40, 1131-1142.

Kosjek, T., Heath, E., Kompare, B., 2007. Removal of pharmaceutical residues in a pilot wastewater treatment plant. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387, 1379-1387.

Kot, A., Zabiegala, B., Namiesnik, J., 2000. Passive sampling for long-term monitoring of organic pollutants in water. *TrAC. Trends in Analytical Chemistry* 19, 446-459.

- Kümmerer, K., 2009. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use – present knowledge and future challenges. *Journal of Environmental Management* 90, 2354-2366.
- Labadie, P., Labadie, H., 2005. Development of an analytical procedure for determination of selected estrogens and progestagens in water samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381, 1199-1205.
- Lacorte, S., Barceló, D., 1996. Determination of parts per trillion levels of organophosphorus pesticides in groundwater by automated on-line liquid–solid extraction followed by liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry using positive and negative ion modes of operation. *Analytical Chemistry* 68, 2464-2470.
- Lahti, M., Oikari, A., 2011. Pharmaceuticals in settleable particulate material in urban and non-urban waters. *Chemosphere* 85, 826-831.
- Lalumera, G.M., Calamari, D., Galli, P., Castiglioni, S., Crosa, G., Fanelli, R., 2004. Preliminary investigation on the environmental occurrence and effects of antibiotics used in aquaculture in Italy. *Chemosphere* 54, 661-668.
- Lambropoulou, D., Lambropoulou, T., 2007. Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography-mass spectrometry-based techniques: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 389, 1663-1683.
- Lange, R., Hutchinson, T.H., Croudace, C.P., Siegmund, F., Schweinfurth, H., Hampe, P., Panter, G.H., Sumpter, J.P., 2001. Effects of the synthetic estrogen 17 alpha-ethinylestradiol on the life-cycle of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 1216-1227.
- Lapworth, D.J., Baran, N., Stuart, M.E., Ward, R.S., 2012. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environmental Pollution* 163, 287-303.
- Larsson, D.G.J., Adolfsson-Erici, M., Parkkonen, J., Pettersson, M., Berg, A.H., Olsson, P.E., Förlin, L., 1999. Ethinylestradiol-an undesired fish contraceptive? *Aquatic Toxicology* 45, 91-97.
- Layton, A.C., Gregory, B.W., Seward, J.R., Schultz, T.W., Sayler, G.S., 2000. Mineralization of steroidal hormones by biosolids in wastewater treatment systems in Tennessee U.S.A. *Environmental Science & Technology* 34, 3925-3931.
- Lemoine, P., Roy-Lachapelle, A., Prévost, M., Tremblay, P., Sollicec, M., Sauvé, S., 2013. Ultra-fast analysis of anatoxin-A using laser diode thermal desorption-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry: Validation and resolution from phenylalanine. *Toxicon* 61, 165-174.
- Leonard, R.A., 1990. Movement of pesticides into surface waters. *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modeling*, 303-349.
- Levine, A.D., Tchobanoglous, G., Asano, T., 1985. Characterization of the size distribution of contaminants in wastewater: Treatment and reuse implications. *Water Pollution Control Federation* 57, 805-816.

Lienert, J., Burki, T., Escher, B.I., 2007. Reducing micropollutants with source control: substance flow analysis of 212 pharmaceuticals in faeces and urine. *Water Science and Technology* 56, 87-96.

Ligue Française de Protection des Droits de l'Animal, R.O.C., Univers-nature, 2002. Homme, nature et pesticides dossier de presse du 20 septembre. . p. 30.

Lindberg, R., Jarnheimer, P.Å., Olsen, B., Johansson, M., Tysklind, M., 2004. Determination of antibiotic substances in hospital sewage water using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry and group analogue internal standards. *Chemosphere* 57, 1479-1488.

Lindberg, R.H., Wennberg, P., Johansson, M.I., Tysklind, M., Andersson, B.A.V., 2005. Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden. *Environmental Science & Technology* 39, 3421-3429.

Liu, R., Zhou, J.L., Wilding, A., 2004. Microwave-assisted extraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for the determination of endocrine disrupting chemicals in river sediments. *Journal of Chromatography A* 1038, 19-26.

Löffler, D., Ternes, T.A., 2003. Determination of acidic pharmaceuticals, antibiotics and ivermectin in river sediment using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1021, 133-144.

Loke, M.L., Ingerslev, F., Halling-Sørensen, B., Tjørnelund, J., 2000. Stability of Tylosin A in manure containing test systems determined by high performance liquid chromatography. *Chemosphere* 40, 759-765.

Loos, R., Hanke, G., Umlauf, G., Eisenreich, S.J., 2007. LC–MS–MS analysis and occurrence of octyl- and nonylphenol, their ethoxylates and their carboxylates in Belgian and Italian textile industry, waste water treatment plant effluents and surface waters. *Chemosphere* 66, 690-699.

Lopez de Alda, M.a.J., Díaz-Cruz, S., Petrovic, M., Barceló, D., 2003. Liquid chromatography–(tandem) mass spectrometry of selected emerging pollutants (steroid sex hormones, drugs and alkylphenolic surfactants) in the aquatic environment. *J. Chromatogr. A* 1000, 503-526.

Martínez-Carballo, E., González-Barreiro, C., Scharf, S., Gans, O., 2007. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environmental Pollution* 148, 570-579.

McClure, E.L., Wong, C.S., 2007. Solid phase microextraction of macrolide, trimethoprim, and sulfonamide antibiotics in wastewaters. *Journal of Chromatography A* 1169, 53-62.

Mes, T., Zeeman, G., Lettinga, G., 2005. Occurrence and fate of Estrone, 17 β -Estradiol and 17 α -Ethinylestradiol in STPs for domestic wastewater. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 4, 275-311.

Metcalfe, C., Tindale, K., Li, H., Rodayan, A., Yargeau, V., 2010. Illicit drugs in Canadian municipal wastewater and estimates of community drug use. *Environ. Pollut* 158, 3179-3185.

- Miao, X.-S., Metcalfe, C.D., 2003. Determination of carbamazepine and its metabolites in aqueous samples using liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 75, 3731-3738.
- Mohapatra, D.P., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Picard, P., Surampalli, R.Y., 2012. Carbamazepine in municipal wastewater and wastewater sludge: Ultrafast quantification by laser diode thermal desorption-atmospheric pressure chemical ionization coupled with tandem mass spectrometry. *Talanta* 99, 247-255.
- Morales, S., Canosa, P., Rodríguez, I., Rubí, E., Cela, R., 2005. Microwave assisted extraction followed by gas chromatography with tandem mass spectrometry for the determination of triclosan and two related chlorophenols in sludge and sediments. *Journal of Chromatography A* 1082, 128-135.
- Morrison, M.A., 2001. Filtration artifacts caused by overloading membrane filters. *Environmental Science & Technology* 35, 3774-3779.
- Mouatassim-Souali, A., Tamisier-Karolak, S.L., Perdiz, D., Cargouet, M., Levi, Y., 2003. Validation of a quantitative assay using GC/MS for trace determination of free and conjugated estrogens in environmental water samples. *Journal of Separation Science* 26, 105-111.
- Munch, R., Hwang, C.P., Lackie, T.H., 1990. Wastewater fractions add to total treatment. *Water and Sewage Works* 49, 412-423.
- Namieśnik, J., Zabiegała, B., Kot-Wasik, A., Partyka, M., Wasik, A., 2005. Passive sampling and/or extraction techniques in environmental analysis: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381, 279-301.
- Nieto, A., Peschka, M., Borrull, F., Pocurull, E., Marcé, R.M., Knepper, T.P., 2010. Phosphodiesterase type V inhibitors: Occurrence and fate in wastewater and sewage sludge. *Water Research* 44, 1607-1615.
- Noppe, H., De Wasch, K., Poelmans, S., Van Hoof, N., Verslycke, T., Janssen, C., De Brabander, H., 2005. Development and validation of an analytical method for detection of estrogens in water. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 382, 91-98.
- Ødegaard, H., 1992. Norwegian experiences with chemical treatment of raw wastewater. *Water Science and Technology* 25, 255- 264.
- Oikari, A., Kukkonen, J., 1990. Bioavailability of benzo(a)pyrene and dehydroabietic acid from a few lake waters containing varying dissolved organic carbon concentrations to *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 45, 54-61.
- Öllers, S., Singer, H.P., Fässler, P., Müller, S.R., 2001. Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water. *Journal of Chromatography A* 911, 225-234.
- Painter, H.A., 1973. Organic compounds in solution in sewage effluents. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 818–822.

- Petrović, M., Eljarrat, E., López de Alda, M.J., Barceló, D., 2001. Analysis and environmental levels of endocrine-disrupting compounds in freshwater sediments. *TrAC. Trends in Analytical Chemistry* 20, 637-648.
- Petrović, M., Gonzalez, S., Barceló, D., 2003. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 22, 685-696.
- Petrovic, M., Gros, M., Barcelo, D., 2007. *Comprehensive analytical chemistry*, Elsevier, Amsterdam.
- Peuravuori, J., Pihlaja, K., 1997. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Analytica Chimica Acta* 337, 133-149.
- Pfeifer, T., Tuerk, J., Bester, K., Spiteller, M., 2002. Determination of selected sulfonamide antibiotics and trimethoprim in manure by electrospray and atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 16, 663-669.
- Phytronix Technologies Inc, 2013. <http://ldtd.phytronix.com/> (consulté le 20 mai 2013).
- Pitarch, E., Medina, C., Portolés, T., López, F.J., Hernández, F., 2007. Determination of priority organic micro-pollutants in water by gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 583, 246-258.
- Pomati, F., Orlandi, C., Clerici, M., Luciani, F., Zuccato, E., 2008. Effects and interactions in an environmentally relevant mixture of pharmaceuticals. *Toxicological Sciences* 102, 129-137.
- Pozo, O.J., Guerrero, C., Sancho, J.V., Ibáñez, M., Pitarch, E., Hogendoorn, E., Hernández, F., 2006. Efficient approach for the reliable quantification and confirmation of antibiotics in water using on-line solid-phase extraction liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1103, 83-93.
- Prada, P., Prada, A., Curran, K., 2010. Comparison of extraction methods for the removal of volatile organic compounds (VOCs) present in sorbents used for human scent evidence collection. *Analytical Methods* 2, 470-478.
- Purdom, C.E., Hardiman, P.A., Bye, V.V.J., Eno, N.C., Tyler, C.R., Sumpter, J.P., 1994. Estrogenic Effects of Effluents from Sewage Treatment Works. *Chemistry and Ecology* 8, 275-285.
- Quinn, B., Gagné, F., Blaise, C., 2009. Evaluation of the acute, chronic and teratogenic effects of a mixture of eleven pharmaceuticals on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of The Total Environment* 407, 1072-1079.
- Quintana, J.B., Weiss, S., Reemtsma, T., 2005. Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Res* 39, 2654-2664.
- Radjenović, J., Jelić, A., Petrović, M., Barceló, D., 2009. Determination of pharmaceuticals in sewage sludge by pressurized liquid extraction (PLE) coupled to liquid chromatography-

- tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 393, 1685-1695.
- Raffaelli, A., Saba, A., 2003. Atmospheric pressure photoionization mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews* 22, 318-331.
- Ratola, N., Cincinelli, A., Alves, A., Katsoyiannis, A., 2012. Occurrence of organic microcontaminants in the wastewater treatment process. A mini review. *Journal of Hazardous Materials* 239–240, 1-18.
- Reed, M.J., Fotherby, K., Steele, S.J., 1972. Metabolism of ethinyloestradiol in man. *Journal of Endocrinology* 55, 351-361.
- Reemtsma, T., 2003. Liquid chromatography–mass spectrometry and strategies for trace-level analysis of polar organic pollutants. *Journal of Chromatography A* 1000, 477-501.
- Renew, J.E., Huang, C.H., 2004. Simultaneous determination of fluoroquinolone, sulfonamide, and trimethoprim antibiotics in wastewater using tandem solid phase extraction and liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1042, 113-121.
- Richardson, S.D., 2008. Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal. Chem.* 80, 4373-4402.
- Rickert, D.A., Hunter, J.V., 1971. General nature of soluble and particulate organics in sewage and secondary effluent. *Water Research* 5, 421-436.
- Rodgers-Gray, T.P., Jobling, S., Morris, S., Kelly, C., Kirby, S., Janbakhsh, A., Harries, J.E., Waldock, M.J., Sumpter, J.P., Tyler, C.R., 2000. Long-term temporal changes in the estrogenic composition of treated sewage effluent and its biological effects on fish. *Environmental Science & Technology* 34, 1521-1528.
- Santos, H.R.d., Prado, G.S.d., Vidal, C.M.d.S., Moruzzi, R.B., Campos, J.R., 2004. applicability of particle size measurement techniques in water and wastewater treatment systems. *Engenharia Sanitaria e Ambiental* 9, 291-300.
- Schiavon, M., Perrin-Ganier, C., Portal, J., 1995. La pollution de l'eau par les produits phytosanitaires : état et origine. *Agronomie* 15, 157-170.
- Segura, P.A., Gagnon, C., Sauvé, S., 2007. A fully automated on-line preconcentration and liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the analysis of anti-infectives in wastewaters. *Analytica Chimica Acta* 604, 147-157.
- Segura, P.A., Tremblay, P., Picard, P., Gagnon, C., Sauvé, S., 2010. High-Throughput Quantitation of Seven Sulfonamide Residues in Dairy Milk using Laser Diode Thermal Desorption-Negative Mode Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry. *J. Agric. Food. Chem.* 58, 1442-1446.
- Seifrtová, M., Nováková, L., Lino, C., Pena, A., Solich, P., 2009. An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. *Analytica Chimica Acta* 649, 158-179.

- Senta, I., Terzic, S., Ahel, M., 2013. Occurrence and fate of dissolved and particulate antimicrobials in municipal wastewater treatment. *Water Res.* 47, 705-714.
- Shang, D.Y., Macdonald, R.W., Ikonou, M.G., 1999. Persistence of nonylphenol ethoxylate surfactants and their primary degradation products in sediments from near a municipal outfall in the strait of Georgia, British Columbia, Canada. *Environmental Science & Technology* 33, 1366-1372.
- Shon, H.K., Vigneswaran, S., Snyder, S.A., 2006. Effluent organic matter (EfOM) in wastewater: Constituents, effects, and treatment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 36, 327-374.
- Shore, L., Gurevitz, M., Shemesh, M., 1993. Estrogen as an environmental pollutant. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 51, 361-366.
- Sinha, V., Sinha, T.G., Custer, T., Kluepfel, J., 2009. The effect of relative humidity on the detection of pyrrole by PTR-MS for OH reactivity measurements. *International Journal of Mass Spectrometry* 282, 108-111.
- Slobodnik, J., Lingeman, H., Brinkman, U.A.T., 1999. Large-volume liquid chromatographic trace-enrichment system for environmental analysis. *Chromatography* 50, 141-149.
- Slobodnik, J., Öztezkizan, Ö., Lingeman, H., Brinkman, U.A.T., 1996. Solid-phase extraction of polar pesticides from environmental water samples on graphitized carbon and Empore-activated carbon disks and on-line coupling to octadecyl-bonded silica analytical columns. *Journal of Chromatography A* 750, 227-238.
- Smith, G.A., Pepich, B.V., Munch, D.J., 2008. Preservation and analytical procedures for the analysis of chloro-s-triazines and their chlorodegradate products in drinking waters using direct injection liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1202, 138-144.
- Smith, R.M., 2003. Before the injection-modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of Chromatography A* 1000, 3-27.
- Snyder, S.A., Keith, T.L., Pierens, S.L., Snyder, E.M., Giesy, J.P., 2001. Bioconcentration of nonylphenol in fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Chemosphere* 44, 1697-1702.
- Snyder, S.A., Keith, T.L., Verbrugge, D.A., Snyder, E.M., Gross, T.S., Kannan, K., Giesy, J.P., 1999. Analytical methods for detection of selected estrogenic compounds in aqueous mixtures. *Environmental Science & Technology* 33, 2814-2820.
- Snyder, S.A., Westerhoff, P., Yoon, Y., Sedlak, D.L., 2003. Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water: Implications for the water industry. *Environmental Engineering Science* 20, 449-469.
- Spongberg, A.L., Witter, J.D., 2008. Pharmaceutical compounds in the wastewater process stream in Northwest Ohio. *Science of The Total Environment* 397, 148-157.
- Steen, R.J.C.A., Hogenboom, A.C., Leonards, P.E.G., Peerboom, R.A.L., Cofino, W.P., Brinkman, U.A.T., 1999. Ultra-trace-level determination of polar pesticides and their transformation products in surface and estuarine water samples using column liquid

chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 857, 157-166.

Taylor, A.W., Spencer, W.F., 1990. Volatilization and vapor transport processes 1. Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modeling, 213-269.

Ternes, T., Ternes, M., Bonerz, N., Herrmann, D., Löffler, E., Keller, B., Lacida, A., 2005. Determination of pharmaceuticals, iodinated contrast media and musk fragrances in sludge by LC tandem MS and GC/MS. *Journal of Chromatography A* 1067, 213-223.

Ternes, T.A., Andersen, H., Gilberg, D., Bonerz, M., 2002a. Determination of estrogens in sludge and sediments by liquid extraction and GC/MS/MS. *Analytical Chemistry* 74, 3498-3504.

Ternes, T.A., Kreckel, P., Mueller, J., 1999. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants — II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Science of The Total Environment* 225, 91-99.

Ternes, T.A., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, F., Brauch, H.-J., Haist-Gulde, B., Preuss, G., Wilme, U., Zulei-Seibert, N., 2002b. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environmental Science & Technology* 36, 3855-3863.

Terzić, S., Senta, I., Ahel, M., Gros, M., Petrović, M., Barcelo, D., Müller, J., Knepper, T., Martí, I., Ventura, F., Jovančić, P., Jabučar, D., 2008. Occurrence and fate of emerging wastewater contaminants in Western Balkan Region. *Science of The Total Environment* 399, 66-77.

Thorpe, K., 2001. Assessing the biological potency of binary mixtures of environmental estrogens using vitellogenin induction in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). (Statistical Data Included). *Environmental Science & Technology* 35, 2476.

Turiel, E., Martín-Esteban, A., Tadeo, J.L., 2006. Multiresidue analysis of quinolones and fluoroquinolones in soil by ultrasonic-assisted extraction in small columns and HPLC-UV. *Analytica Chimica Acta* 562, 30-35.

U.S. Environmental Protection Agency, 2007. Method 1694: Pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS: USEPA. 77.

United Nations Environment Programme, 2002. Sub-saharan Africa regional report : Regionally based assessment of persistent toxic substances.

USEPA, 2003. Region/ORD Workshop on Emerging Pollutants: Summary Report, August 11-14, 2003, Chicago, Illinois. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development.

Vaillant, S., Pouet, M.-F., Thomas, O., 1999. Methodology for the characterisation of heterogeneous fractions in wastewater. *Talanta* 50, 729-736.

van Aerle, R., 2002. Window of sensitivity for the estrogenic effects of ethinylestradiol in early life-stages of fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Ecotoxicology* 11, 423-434.

- Vanderford, B.J., Pearson, R.A., Rexing, D.J., Snyder, S.A., 2003. Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 75, 6265-6274.
- Vanderford, B.J., Snyder, S.A., 2006. Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Environmental Science & Technology* 40, 7312-7320.
- Viglino, L., Prévost, M., Sauvé, S., 2011. High throughput analysis of solid-bound endocrine disruptors by LDTD-APCI-MS/MS. *J. Environ. Monit.* 13, 583-590.
- Vo Duy, S., Fayad, P.B., Barbeau, B., Prévost, M., Sauvé, S., 2012. Using a novel sol-gel stir bar sorptive extraction method for the analysis of steroid hormones in water by laser diode thermal desorption/atmospheric chemical ionization tandem mass spectrometry. *Talanta* 101, 337-345.
- Von Sperling, M., 2007. Wastewater characteristics, treatment and disposal. IWA Publishing.
- Vulliet, E., Baugros, J.-B., Flament-Waton, M.-M., Grenier-Loustalot, M.-F., 2007. Analytical methods for the determination of selected steroid sex hormones and corticosteroids in wastewater. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387, 2143-2151.
- Wells, M.J.M., 1986. Off-line multistage extraction chromatography for ultra-selective herbicide residue isolation, in *Proceedings of the 3rd Annual International Symposium on Sample Preparation and Isolation Using Bonded Silicas*. *Analytical Chemistry International*, 117-135.
- Weng, J., Maguire, R.J., Lee, H.-B., Peart, T.E., 1998. Occurrence of alkylphenoxyacetic acids in Canadian sewage treatment plant effluents. *National Water Research Institute*, 33, 19-29.
- Wilkinson, K.J., Lead, J.R., 2007. *Environmental Colloids and Particles: Behaviour, Separation and Characterisation*. Wiley.
- Wilson, A.L., 1976. *The chemical analysis of water: General principles and techniques*. Chemical Society.
- Wu, C., Witter, J.D., Spongberg, A.L., Czajkowski, K.P., 2009. Occurrence of selected pharmaceuticals in an agricultural landscape, western Lake Erie basin. *Water Research* 43, 3407-3416.
- Yang, J.-F., Ying, G.-G., Zhao, J.-L., Tao, R., Su, H.-C., Chen, F., 2010. Simultaneous determination of four classes of antibiotics in sediments of the Pearl Rivers using RRCL-MS/MS. *Science of The Total Environment* 408, 3424-3432.
- Yasin, M., Yasin, P.J., Baugh, G.A., Bonwick, D.H., Davies, P., Hancock, M., 1996. Analytical method development for the determination of synthetic pyrethroid insecticides in soil by gas chromatography-mass spectrometry operated in negative-ion chemical-ionization mode. *Journal of Chromatography A* 754, 235-243.
- Zhang, H.-F., Zhang, X.-H., Yang, L.-D., Zhao, Y., 2009. Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of *Epimedium* and extraction mechanism. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 10, 54-60.

Zhang, Y., Geißen, S.-U., Gal, C., 2008. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere* 73, 1151-1161.

Zhou, R., Zhu, L., Chen, Y., Kong, Q., 2008. Concentrations and characteristics of organochlorine pesticides in aquatic biota from Qiantang River in China. *Environmental Pollution* 151, 190-199.

Zwiener, C., Frimmel, F., 2004. LC-MS analysis in the aquatic environment and in water treatment – a critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 378, 851-861.