

Université de Montréal

Détection de matériaux énergétiques dans les eaux naturelles souterraines par spectroscopie de résonance des plasmons de surface portable

par Geneviève Granger

Département de chimie, Université de Montréal

Faculté des arts et 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

Mars 2017

© Geneviève Granger, 2017

Résumé

Au cours des dernières années, les matériaux énergétiques, tels que le 2,4,6-trinitrotoluène (TNT) et le 1,3,5-trinitro perhydro-1,3,5-triazine (RDX), ont été utilisés lors des activités d'entraînement militaire, ayant un impact potentiel sur l'environnement, les bases militaires, la population environnante, la faune et la flore. Sur les champs de tir, les sols à proximité des cibles et autour des positions de tir nécessitent une surveillance particulière, puisqu'il est possible de trouver une importante quantité de résidus d'explosif qui peuvent être transportés vers les eaux de surface et des eaux souterraines avec les précipitations. Toutefois, la procédure actuelle pour détecter des matériaux énergétiques dans l'eau naturelle est complexe, longue, nécessite un personnel hautement spécialisé et augmente le risque de contamination croisée. Par conséquent, il est difficile d'assurer un contrôle rapide et continu des contaminants. En fait, l'objectif des travaux présentés dans ce mémoire est de développer une technique pour identifier et quantifier les explosifs et leurs produits de dégradation dans les eaux naturelles. En outre, ce test doit être in situ, en continu, peu coûteux et rapide. La résonance des plasmons de surface (SPR) a été donc utilisée pour quantifier les matériaux énergétiques. Une matrice de bis-aniline réticulée avec des nanoparticules d'or (AuNPs) est utilisée en tant que polymère à empreinte moléculaire (MIP) sur le film d'or pour capturer sélectivement le composé d'intérêt. L'association de la molécule d'intérêt, tel que le TNT ou RDX, au MIP par interactions π -donneur-accepteur permet la détection d'explosifs suite aux changements d'indice de réfraction sur la sonde. Le couplage entre les plasmons des AuNPs et de la couche d'or peut également augmenter les signaux SPR. Le test optimisé a ensuite été utilisé sur une base militaire canadienne. L'utilisation de cet essai à base de MIP fournit un outil pour l'extraction et la pré-concentration de TNT ou RDX à la surface d'une sonde SPR et permet leur détection en continu de faibles concentrations dans les eaux naturelles.

Mots-clés : Matériaux énergétiques, SPR, plasmon de surface, TNT, RDX, polymère à empreinte moléculaire, MIP, eau naturelle

Abstract

Over the last few years, energetic materials such as 2,4,6-trinitrotoluene (TNT), 1,3,5-trinitroperhydro-1,3,5-triazine (RDX) and octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine (HMX) have been used and show a probable environmental impact on military bases, the surrounding population, fauna and flora, caused by military training involving munitions. On shooting ranges, soils near the firing positions and around targets require special monitoring, since the quantities of explosives residues found can be significant, and these compounds can be transported to surface water and groundwater by precipitation. However, the current procedure to detect energetic materials in natural water is complex, long and poorly adapted to. These operations require highly specialized personnel and increase the risk of cross contamination. Therefore, it is difficult to ensure a fast and continuous monitoring of the contaminants. Here, the objective is to develop a technique for identifying and quantifying explosives and their degradation products in natural water. Also, this test has to be *in-situ*, inexpensive and fast. Surface plasmon resonance (SPR) has been proposed to probe energetic materials. A bis-aniline-cross-linked gold nanoparticles (AuNPs) matrix is used as a molecular imprinted polymer (MIP) on gold film to selectively capture the target compound. The association of the target such as TNT or RDX to the MIP with π -donor-acceptor interactions have allow the detection of explosives by following SPR refractive changes. Plasmon coupling effects between the AuNPs and the gold film could also increase the SPR signals. The optimal sensor was then used on site to detect RDX in underground water of a Canadian military base. The utilisation of MIP based assay will provide a tool for the extraction and pre-concentration of TNT or RDX on the detector's surface and will allow the detection of lower concentrations in natural water.

Keywords: Energetic materials, SPR, Surface plasmon resonance, TNT, RDX, Molecularly imprinted polymers, MIP, Natural water

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures.....	vii
Liste des sigles et abréviation.....	xi
Chapitre 1 : Introduction.....	1
1.1 Préambule.....	1
1.1.1 Mise en contexte.....	1
1.1.2 Approche proposée.....	4
1.2 La résonance des plasmons de surface.....	4
1.2.1 Historique.....	4
1.2.2 Théorie de la SPR.....	5
1.2.3 L'instrumentation SPR.....	12
1.2.4 Acquisition d'un spectre.....	16
1.3 Polymères à empreintes moléculaires (MIP).....	19
1.3.1 Historique.....	19
1.3.2 Théorie de base sur les MIPs.....	19
1.3.3 Formation du capteur pour la détection d'explosifs.....	21
1.4 Directions et perspectives du mémoire.....	21
Chapitre 2 : Partie expérimentale.....	24
2.1 Formation de la matrice polymérique.....	24
2.1.1 Synthèse de nanoparticules d'or (AuNPs) 3.5 nm.....	25
2.1.2 Formation du capteur avec polymère à empreintes moléculaires.....	26
2.2 Caractérisation de la matrice polymérique.....	28
2.3 Échantillonnage d'eau naturelle sous-terrain et entreposage.....	29

2.4 Détection de RDX par spectroscopie de résonance des plasmons de surface	30
2.4.1 Analyses SPR.....	30
2.4.2 Réalisation de la courbe d'étalonnage	31
2.5 Sommaire du Chapitre 2	35
Chapitre 3 : Caractérisation de la couche polymérique	36
3.1 Microscope à balayage électronique (SEM).....	36
3.2 Microscopie à champ sombre - Darkfield.....	38
3.3 Microscopie à force Atomique – AFM.....	41
3.4 Résonance des plasmon de Surface	44
3.5 Sommaire du Chapitre 3	47
Chapitre 4 : Détection de RDX dans l'eau naturelle par résonance des plasmons de surfaces	49
4.1 Détection en laboratoire.....	49
Colonne B	50
(Base Militaire).....	50
Solutions RDX.....	50
Colonne A.....	50
(Silice).....	50
4.2 Détection lors de campagnes sur le terrain	50
4.2.1 Campagne juin 2015	51
4.2.2 Campagne avril 2016	54
4.2.3 Campagne septembre 2016.....	58
4.3 Sommaire du Chapitre 4	61
Chapitre 5: Conclusions.....	62
5.1 Améliorations.....	63
5.2 Perspectives.....	63
Chapitre 6: Bibliographie.....	i
Annexe I.....	vii
Méthode EPA 8330B	vii

Conditions météorologiques sur la base militaire	viii
Comparaison de données	ix
Données HPLC-UV déterminant le temps d'extraction de la molécule empreinte	x
Données sur l'échantillon d'eaux usées utilisé lors de l'exposition aux matières organiques suivi par Darkfield	xi

Liste des tableaux

Tableau I. Influence de la température sur la sensibilité et la réponse SPR du RDX dans l'eau naturelle	47
Tableau II. Table des concentrations de matériaux énergétiques dans les eaux naturelles recueillies lors des trois campagnes d'échantillonnage par la méthode EPA 8330B fait dans les laboratoires de l'INRS à Québec	vii
Tableau III. Comparaison de données des méthodes In-situ avec échantillons dynamiques et stagnants lors de la campagne d'avril 2016	ix
Tableau IV. Comparaison de données des méthodes In-situ et en laboratoire lors de l'échantillonnage de septembre 2016.....	ix
Tableau V. Comparaison de données des méthodes In-situ et EPA 8330B lors de l'échantillonnage de septembre 2016.....	ix
Tableau VI. Comparaison de données des méthodes EPA 8330B et en laboratoire lors de l'échantillonnage de septembre 2016.....	ix
Tableau VII. Détection d'acide picrique par HPLC-UV pour quatre prismes (091601, 091701, 091702 et 091703) suite à l'extraction dans 5mL d'une solution fraîche d'HEPES 0.1M à pH 7.2	x

Liste des figures

Figure 1. Structure moléculaire du 2,4,6-trinitrotoluène (TNT) et du 1,3,5-trinitroperhydro-1,3,5-triazine (RDX).....	2
Figure 2. Champs électrique et magnétique de la lumière	6
Figure 3. Propagation de la lumière par réflexion totale interne.....	7
Figure 4. Champ évanescent	8
Figure 5. Propagation du plasmon.....	8
Figure 6. Schématisation du module de la valeur du vecteur d'onde de la lumière et du plasmon de surface dans l'air et dans un prisme d'indice de réfraction plus élevé.....	10
Figure 7. Schématisation de la résonance des plasmons de surface.....	10
Figure 8. L'excitation du plasmon de surface localisé directement avec la lumière visible. L'oscillation du champ électrique induit une polarisation des électrons de conduction de la nanoparticule, qui peut entrer en résonance avec le vecteur d'onde approprié.	12
Figure 9. Schéma simplifié de l'instrumentation optique d'un système SPR utilisant un prisme de Dove et en configuration Kretschmann interrogation des longueurs d'onde.....	13
Figure 10. Spectre de réflectance pour l'excitation d'un plasmon de surface via un instrument à interrogation spectrale ou angulaire.....	14
Figure 11. Instrument SPR portable P4-SPR développé dans les laboratoires du professeur Masson à l'Université de Montréal et la microfluidique utilisée sur la sonde SPR.	15
Figure 12. Schématisation d'une acquisition SPR en orange) signal de référence de la solution sans analyte, en bleu) signal de l'analyte dans le milieu complexe, en vert) rinçage. 17	
Figure 13. Représentation schématique de la stratégie la plus commune de fabrication du MIP sans lien covalent avec les monomères fonctionnels () , les monomères réticulables () , la molécule empreinte () et l'analyte ()	20
Figure 14. Schéma AuNPs fonctionnalisées au 4-aminothiophénol et sodium mercaptoéthane sulfonate.....	25
Figure 15. Cellule électrochimique en Teflon et les électrodes de quasi-référence (Ref), la contre électrode (CE) et l'électrode de travail (W).....	27

Figure 16.	Voltammogramme cyclique et chronoampérogramme obtenus lors de l'électropolymérisation de la surface d'or fonctionnalisée de la sonde SPR.....	28
Figure 17.	Courbes d'étalonnage A) avec injection manuelle pour [RDX] entre 4ppt et 4ppm, B) avec injection manuelle et rinçage à l'eau distillée pour [RDX] entre 5fM et 500fM, C) avec injection à la pompe péristaltique à 1mL/min et rinçage à l'eau distillée pour [RDX] entre 1pM et 10nM et D) avec injection à la pompe péristaltique à 1mL/min pour [RDX] entre 1.83pM et 29.3nM dans l'eau naturelle	32
Figure 18.	A) Courbe d'étalonnage normalisée sur [RDX]=10nM séparée en deux régimes B) de 1pM à 1nM ayant comme droite $y=0.0409x + 0.9477$ ($R^2=0.9933$) et C) de 1nM à 50nM ayant comme droite $y=0.0616x+0.4835$ ($R^2=0.996$)	33
Figure 19.	Schéma de la formation de la matrice de polymère à empreinte moléculaire avec AuNPs  et la molécule empreinte  1) Fonctionnalisation 2) Électropolymérisation 3) Extraction de la molécule moule.....	Error! Bookmark not defined.
Figure 20.	Schématisation d'un microscope à balayage électronique (SEM)	37
Figure 21.	Images SEM de la limite entre la partie électropolymérisée et non électropolymérisé (gauche haut), des nanoparticules agglomérées sur une surface des nanotrous (droite haut) et de différentes zones sur le capteur SPR électropolymérisé (droite et gauche en bas).....	38
Figure 22.	Image de microscopie à champ sombre d'une plaque ITO électro-polymérisée	39
Figure 23.	A) Exemple de spectre composant la bibliothèque spectrale de 150 pixels correspondant aux AuNPs répartis sur 3 échantillons de MIP sèche B) Image de microscope à champ sombre de la surface ITO recouvert avec le MIP pour RDX sèche électropolymérisé dans les mêmes conditions que la surface SPR	40
Figure 24.	Images de la délimitation entre le polymère et la plaque ITO avant et après l'exposition aux eaux usées, ainsi que leur pourcentage concordant à la bibliothèque spectrale de nanoparticules d'or.....	41
Figure 25.	Images AFM de nanodisques sans MIP A) T-F B) Topographie C) Topographie représentation 3-D.....	42

Figure 26. Images AFM de nanodisques avec MIP A) T-F B) Topographie C) Topographie représentation 3-D	42
Figure 27. Images AFM de nanodisques avec MIP exposé au RDX A)T-F B)Topographie C)Topographie représentation 3-D	42
Figure 28. Coupe transversale de l'image topographique en AFM des nanodisques avec MIP sec non exposé au RDX. Gauche) Image AFM de la zone de la coupe transversale et Droite) la hauteur des nanodisques et du MIP selon la coupe transversale.	43
Figure 29. Estimation de l'épaisseur du MIP à partir de la différence de hauteur du nanodisque d'Or après électropolymérisation	44
Figure 30. Courbe d'étalonnage des concentrations de RDX de 1pM, 5pM, 10pM, 50pM, 100pM, 500pM, 1nM, 5nM, 10nM, 50nM et H ₂ O sur A) un substrat d'or nu, B) une monocouche de 4-AMTP et C) le MIP de AuNPs en temps réel par injection à la seringue. D) Les courbes d'étalonnages pour les diverses concentrations sur l'or nu (---), la monocouche de 4-AMTP (···) et le MIP de AuNPs (—).	45
Figure 31. Sensorgramme de la réponse SPR pour une surface électropolymérisée pour le RDX soumis à différentes concentrations entre 1pM et 10nM de (---) TNT et de (—) RDX. .	46
Figure 32. Montage de colonnes de sables A) de silice utilisée comme référence et B) recueilli sur la base militaire canadienne pour la détection en continu de RDX avec le P4-SPR portable.....	50
Figure 33. Schéma du champ de tir de l'armée Canadienne utilisé pour le lancement de grenades à fragmentation.	51
Figure 34. Signal SPR correspondant aux injections SPR de l'eau désionisée (EDI), l'eau non contaminée (BG) et de l'eau contaminée avec bisulfite (EC) sur un prisme SPR avec film d'or électropolymérisé pour la détection de RDX	52
Figure 35. Photographies des mesures environnementales sur le terrain avec le système SPR portable lors de la campagne d'échantillonnage 1	53
Figure 36. Photographies des mesures environnementales sur le terrain avec le système SPR portable lors de la campagne d'échantillonnage avril 2016	54
Figure 37. Méthode d'échantillonnage 1 : Détection de RDX en continu sur des échantillons stagnants	55

Figure 38. Méthode d'échantillonnage 2 : Détection de RDX en continu sur des échantillons dynamiques	56
Figure 39. Signal SPR pour la détection du RDX dans les puits A-6m, B-5m et C-5m autour du champ de tir avec la méthode à échantillons dynamiques	57
Figure 40. Photographies des mesures environnementales sur le terrain avec le système SPR portable lors de la campagne d'échantillonnage 3	58
Figure 41. Signal SPR pour la détection du RDX dans les puits B-5m et D-5m autour du champ de tir de l'armée canadienne avec la méthode à échantillons dynamiques	59
Figure 42. Étude comparative des données acquises dans différents puits, B-5m, D-5m et E-5m, pour les concentrations de RDX dans l'eau naturelle utilisant trois méthodes; EPA 8330B (HPLC-UV/SPE-HPLC-UV), SPR in-situ et SPR en laboratoire	60
Figure 43. Rapport de données horaire de la base militaire A) l'humidité relative, B) la température et C) la pression, entre 9 :00 et 18 :00 pour les cinq campagnes d'échantillonnage effectuées au champ de tir	viii

Liste des sigles et abréviation

4-AMTP : 4-Aminothiophénol

Acide de Kemp : Acide *cis,cis*-1,3,5-triméthylcyclohexane-1,3,5-tricarboxylique

Acide Picrique : 2,4,6-trinitrophénol

AFM : Microscope à force atomique

Au: Or

AuNPs: Nanoparticules d'or

BG: Background

CNW: Contaminated Natural Water

EDI : eau désionisée

HEPES : acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique

HPLC: High-performance liquid chromatography

ITO: Indium tin oxide

LSPR: Localised surface plasmon resonance

ME: Matériau Énergétique

MIP : Molecularly imprinted polymer

PEHD : Polyéthylène haute densité

pM : Picomolaire

ppb : Parts-per-billion (10^{-9})

ppm : Part-per-million (10^{-6})

PVC: Polyvinyl chloride

NW : Natural water

RDDC : Recherche et Développement Défense Canada

RDX : 1,3,5-Trinitroperhydro-1,3,5-triazine

SEM : Microscope à balayage électronique

SPR : Résonance des plasmons de surface

TNT : 2,4,6-Trinitrotoluène

“One never notices what has been done; one can only see what remains to be done,”

-Marie Curie

Remerciements

Je tiens à remercier tout d'abord Jean-François Masson, pour m'avoir permis de faire partie de son groupe de recherche. Jean-François est un directeur de recherche exceptionnel, très à l'écoute de ses élèves et très généreux de son temps. Toujours présent et prêt pour les discussions à son bureau. Merci pour l'orientation lors de mon passage dans le groupe.

Un merci aussi à tous les étudiants qui m'ont accompagnée lors de mes études. Que ce soit au baccalauréat ou à la maîtrise, nous avons partagé plusieurs beaux moments. Merci pour les moments cocasses, et les moments de party. Merci aussi de m'avoir guidé lorsque j'étais perdue. Merci à Martin Dansereau, Shawn Parisien Colette, Audrey Hébert, Pier-Louis Dumont, et tous les étudiants que j'ai côtoyés quotidiennement.

Un grand merci à Jérémie Labrecque Carbonneau, toujours là quand il y a un problème et toujours partant pour aider. Ton honnêteté et ta spontanéité sont rafraichissantes dans les journées de routine. Un gros merci à Félix Lussier pour sa compétence et ses énormes conseils qui ont été un point tournant dans ma maîtrise. Tes choix musicaux dans le laboratoire ne sont pas détronables. Merci à Thierry Havard de m'avoir écouté chialer et d'avoir compati avec moi lors de moments plus difficiles. Notre projet a eu ses hauts et ses bas, mais nous y en sommes enfin parvenus jusqu'au bout. Un énorme merci à Natalia Bukar pour m'avoir prise sous ses ailes et m'avoir transmis son savoir. Très patiente et toujours avec le sourire, tu as enduré mes innombrables questions et insécurités. Merci de m'avoir fait découvrir un peu de ta culture, tes chansons, tes bonbons et quelques mots russes.

Merci à tout le groupe Masson, Julien Brault-Turcot, Marie-Pierre Dinel, Maxime Couture, Hugo-Pierre Poirier Richard, Alexandra Aubé, Thibault Brulé, Hélène Yockell-Lelièvre, Hu Zhu, Kristy McKeating, Simon Forest, Marc Vidal, et Simon Laporte, pour votre présence et votre soutien pendant ces deux années de maîtrise.

Sans oublier, mes parents, France Bois et Jean Granger, pour leur amour inconditionnel et aussi leur soutien financier, les bons repas et leur encouragement tout au long de mes études. Merci à mon fiancé, Trevor Théoret, qui a toujours cru en moi et qui m'a accompagné et compris dans les bons et les mauvais moments.

Chapitre 1 : Introduction

1.1 Préambule

1.1.1 Mise en contexte

Mondialement, le 2,4,6-trinitrotoluène (TNT) et le hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) (Fig. 1) sont reconnus pour être des matériaux énergétiques généralement utilisés comme explosifs, et ainsi, qui se décomposent rapidement avec une expansion gazeuse soudaine et un fort dégagement d'énergie. Les matériaux énergétiques retrouvés dans la poudre de détonation sont généralement des composés de la famille des nitroaromatiques tel que le TNT et des nitramines comme le RDX. Les matériaux énergétiques sont retrouvés à des lieux où les munitions et les explosifs sont manufacturés, mais aussi sur les sites avec une forte incidence de tirs tels que les sites utilisés lors de la guerre, lors du dynamitage à des fins de développement urbain ou d'installations minières, lors de certains sports de tirs, ainsi que les zones utilisées, entre autres, lors de pratiques militaires. Tous ces sites sont des sources de contamination notables pour l'écosystème terrestre et aquatique.¹ Par exemple, depuis plusieurs décennies, les installations militaires et les champs de tir sont contaminés à certains endroits par des substances contenant des explosifs ou des munitions.

Ces composés sont généralement résistants à la décomposition biologique et s'accumulent dans la biosphère, causant ainsi une source de contamination néfaste pour l'environnement, mais aussi pour la santé humaine.¹ La mauvaise gestion des composés suite à leur fabrication et leur utilisation cause une contamination environnementale importante. La gestion des sites contaminés par des résidus de munitions est devenue un problème international.² Il est important de posséder une bonne connaissance sur le sort et le transport des matériaux énergétiques et de leurs dérivés dans l'environnement afin d'avoir une remédiation et une gestion des risques plus efficace. Plusieurs études ont été menées par Recherche Défense et Développement Canada (RDDC)³, ainsi que Cold Regions Research and Engineering Laboratory (CRREL, Hanover, New Hampshire, USA)⁴ afin de mieux comprendre le sort des explosifs et de leurs produits de dégradation dans les sols et les eaux souterraines. En plus de la dilution et de la dispersion des contaminants, les transformations biotiques et abiotiques, les

liens covalents à la matière organique et l'adsorption par les sols sont des processus importants à considérer concernant le transport et le sort des explosifs dans l'eau souterraine.⁵ L'adsorption sur les sédiments et les particules dans un système aquatique peut atténuer significativement la concentration libre dissoute et altérer la biodisponibilité du composé dans l'eau naturelle.⁶

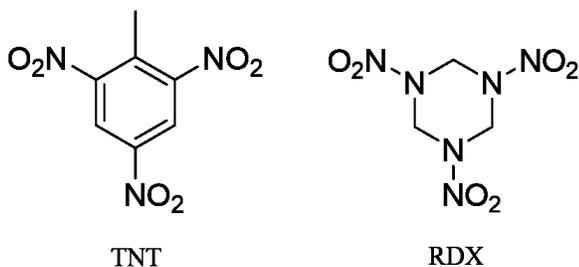


Figure 1. Structure moléculaire du 2,4,6-trinitrotoluène (TNT) et du 1,3,5-trinitroperhydro-1,3,5-triazine (RDX)

Pour le TNT, une fois répandu au sol, il se dégrade rapidement en dérivé aminé et se fixe sur les composés organiques de façon irréversible.^{4,6} Ainsi, le transport dans les eaux souterraines est diminué et on le retrouve très peu dans les eaux naturelles.⁵ Il est observé que le TNT ainsi que le RDX peuvent s'adsorber sur les minéraux, les revêtements amorphes d'oxyde métallique, les composés humiques et les colloïdes organiques et inorganiques dans les sédiments.⁶ La biodégradation du RDX est moins fréquente et sa fraction soluble percole rapidement dans le sol et atteint la nappe phréatique, augmentant potentiellement la zone de contamination en comparaison avec le TNT.^{6,7} Le sort des contaminants dans l'environnement est déterminé par les propriétés physicochimiques des composés, mais aussi par les conditions environnementales variables.

Au Canada, des efforts considérables sont investis afin de minimiser l'impact environnemental causé par l'entraînement militaire impliquant de la poudre à munition. Les normes environnementales imposées par l'EPA (U.S. Environmental Protection Agency) et suivies au Québec pour le TNT et le RDX sont de 2 ppb dans les eaux naturelles et l'eau potable.^{4,6} Une concentration d'explosifs à l'extérieur des normes de santé peut affecter la population de la base militaire, la population avoisinante, ainsi que la faune et la flore des alentours. En effet, les sols possédant une contamination élevée en TNT se retrouvent avec une faible abondance microbienne suivant un changement dans leur constitution génétique.¹ La contamination des

sites militaires par les matériaux énergétiques possède donc un impact environnemental important sur les plantes et l'écologie microbienne, et ainsi affecte aussi la santé humaine.^{1, 5, 8} Un lien entre des dommages au foie chez les humains et une exposition au TNT a été démontré par l'USEPA.⁶ Les groupements nitro et hydroxylamine responsable de la toxicité du TNT réagissent avec les molécules biologiques causant des effets cancérigènes et mutagènes. Une exposition au TNT augmenterait les risques d'anémie hémolytique avec une déficience en glucose-6-déhydrogénase, de cataractes, d'irritation de la peau, d'insuffisance hépatique, de trouble de globule rouge et d'anémie aplasique. L'ingestion de RDX affecterait principalement le système nerveux central et porterait atteinte au tractus gastro-intestinal.¹ De plus, le TNT et le RDX sont classifiés comme étant des composés possiblement cancérigènes pour l'être humain (Group C) selon USEPA et sous-groupe 3 dans la section cancérigène de l'International Agency for Research on Cancer.⁶

Ainsi, dues aux pratiques impliquant des munitions et aux conditions environnementales variables, il est important d'avoir une surveillance régulière des eaux souterraines afin de ne pas dépasser les critères environnementaux. Les méthodes utilisées pour détecter et identifier les matériaux énergétiques dans l'eau naturelle requièrent diverses techniques analytiques standards telles que HPLC-UV et GC-ECD (procédure EPA 8330b).^{9, 10} Cette procédure comprend l'échantillonnage sur le terrain, le transport des échantillons en laboratoire, la préconcentration/extraction¹¹ et l'analyse instrumentale. Les méthodes actuelles pour quantifier les explosifs dans l'eau naturelle sont donc complexes, longues, mal adaptées et doivent être exécutées en laboratoire, ce qui augmente le risque de contamination croisée lors du transport, en plus de requérir le travail de professionnels.^{12, 13} Le processus peut prendre jusqu'à plusieurs semaines et augmente le risque de perte de validité des résultats due à une possible péremption des échantillons naturels, ainsi qu'aux changements environnementaux et aux pratiques militaires.¹⁴ Toutefois, les bases militaires devraient être testées de façon plus régulière pour un suivi efficace de la contamination en fonction de l'environnement dynamique et des pratiques militaires.

Subséquentement, en collaboration avec RDDC, une méthode de détection des explosifs dans l'eau naturelle est proposée pour être applicable en continu sur le terrain pour la détection de TNT et RDX dans l'eau souterraine. Avec l'aide d'un hydrogéologue de l'INRS à Québec,

des puits ont été positionnés autour d'un champ de tir d'une base militaire canadienne de façon à pouvoir y installer des sondes et surveiller les niveaux de contamination autour du terrain. L'instrument de détection portable (point of care – POC) développé sera facile d'utilisation, de petite taille, permettra une analyse rapide, et opérera à faible coût. L'instrument POC devra également être apte à effectuer des mesures directement dans un échantillon d'eau naturelle complexe, et ce, sur le terrain et sous diverses conditions environnementales.

1.1.2 Approche proposée

La résonance des plasmons de surface (Surface Plasmon Resonance – SPR) est une technique largement utilisée pour la biodétection, mais demeure une technique émergente pour la détection environnementale. Utilisé pour sa capacité d'analyse en temps réel, l'instrument SPR peut fournir des mesures en continu sur le terrain. L'exploitation de la source lumineuse en réflexion totale interne et le phénomène de champ évanescent, tel qu'expliqué à la section 1.2.2, permet une détection dans un milieu turbide et complexe comme l'eau naturelle. La SPR possède la capacité d'analyser une gamme d'analytes à des concentrations traces aussi faibles que le picomolaire.¹⁵ Sur le marché, plusieurs appareils SPR portables sont disponibles, entre autres, Spreeta de Texas Instrument¹⁶ et SPIRIT de Seattle Sensor System¹⁷ offrant une plateforme de détection pouvant être transportée sur le terrain lors d'analyses environnementales.

1.2 La résonance des plasmons de surface

1.2.1 Historique

Bien que l'utilisation commune de la SPR demeure récente, les premières observations du phénomène physique des plasmons de surface ont été notées il y a plus d'un siècle par Wood.¹⁸ En 1902, il observe des motifs anormaux de réflexion suite à la polarisation de la lumière blanche émise sur un réseau de diffraction métallique.¹⁹ Ce n'est qu'en 1968 qu'Otto émet la première interprétation complète du phénomène physique de l'excitation du plasmon de surface par réflexion totale atténuée.²⁰ Au courant de la même année, un montage optique ayant un prisme possédant un indice de réfraction plus élevé que l'air est proposé par Kretschmann et Raether pour exciter les plasmons de surface. Encore aujourd'hui, plusieurs appa-

reils commerciaux sont basés sur la configuration Kretschmann.^{21, 22} Ainsi, les applications de la SPR ne font que s'accroître depuis la dernière décennie, passant par le domaine agroalimentaire, biomédical, environnemental, ainsi qu'à des fins de sécurité.²³

1.2.2 Théorie de la SPR

La spectroscopie SPR est une technique utilisant les propriétés de la lumière à des fins d'analyses chimiques et biologiques. Il est donc important de connaître certaines propriétés de la lumière afin de mieux comprendre l'instrumentation optique pour le SPR.

Le principe de détection repose sur une oscillation de charge se propageant à l'interface entre la couche métallique et le milieu diélectrique. La résonance des plasmons de surface est une technique optique mesurant la différence de constantes diélectriques à la surface d'une sonde recouverte d'une mince couche métallique. Comme la constante diélectrique d'un matériau est reliée à l'indice de réfraction par la relation montrée dans l'équation 1, la spectroscopie SPR mesure donc ainsi les changements d'indice de réfraction d'une solution à la surface de la sonde. Par exemple, l'absorption ou la désorption de molécules à la surface métallique induit un changement de l'indice de réfraction à la surface.

$$\varepsilon = (\eta + ik)^2 \quad (1)$$

Où ε représente la constante diélectrique complexe du matériau, η et k représentent la partie réelle et imaginaire de la constante diélectrique, respectivement. Les propriétés optiques seront discutées plus en détail.

Moment de la lumière et vecteur d'onde

Les photons sont des particules se déplaçant à une vitesse de $3.00 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$, variable selon le milieu, possédant des champs électrique (E) et magnétique (H) en phase oscillant orthogonalement à la direction de propagation.

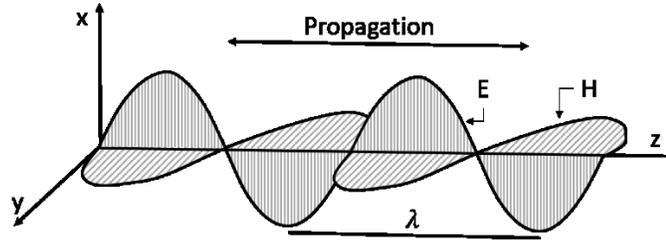


Figure 2. Champs électrique et magnétique de la lumière

L'énergie du photon est représentée par l'équation suivante :

$$E_{\text{photon}} = h\nu = \hbar\omega \quad (2)$$

Où h est la constante de Planck, ν est la fréquence du photon, \hbar est la forme réduite de la constante de Planck ($\hbar = \frac{h}{2\pi}$) et ω est la fréquence angulaire.

Le moment du photon (p) est obtenu par la division de l'énergie du photon par sa vitesse, c .

$$p = \frac{\hbar\omega}{c} \quad (3)$$

Et enfin, le vecteur d'onde (k) est défini comme étant ω/c .

Propagation de la lumière

La lumière est une onde électromagnétique qui possède des propriétés corpusculaires et ondulatoires et qui voyage en ligne droite d'un point à l'autre. Si la lumière atteint une interface entre deux matériaux transparents, la lumière se propage du matériau 1 au matériau 2. Si les indices de réfraction η des matériaux sont différents, la trajectoire de la lumière sera déviée selon la différence d'indice de réfraction entre les deux matériaux (équations 4, 5).

$$\eta = \frac{c_{\text{vide}}}{c_{\text{matériau}}} \quad (4)$$

$$\eta_1 \sin\theta_1 = \eta_2 \sin\theta_2 \quad (5)$$

Où c_{vide} est la vitesse de la lumière dans le vide (3.00×10^8 m/s), $c_{\text{matériau}}$ est la vitesse de la lumière dans le matériau, θ_1 est l'angle incident dans le matériau 1 et θ_2 est l'angle de sortie dans le matériau 2.

Un matériau de haute densité optique possède un indice de réfraction plus élevé que le matériau de basse densité optique qui possède un indice de réfraction plus bas. Lorsque la lumière passe d'un indice de réfraction faible à un matériau de haute densité optique, la vitesse de la lumière diminue. Cependant, si la lumière se propage d'un milieu de haute densité optique vers un milieu de basse densité optique avec un angle supérieur à l'angle critique (θ_c), le photon restera dans le milieu de plus haute densité optique selon le régime de réflexion totale interne (Fig. 3).

$$\sin\theta_c = \frac{n_2}{n_1}, (\eta_1 < \eta_2) \quad (6)$$

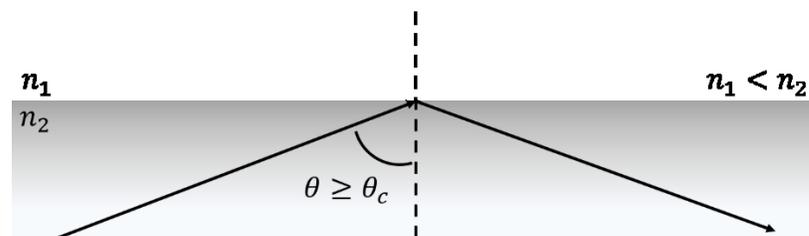


Figure 3. Propagation de la lumière par réflexion totale interne

L'onde évanescente

En réflexion totale interne, le champ électrique ou magnétique du photon peut pénétrer légèrement dans le deuxième milieu. Lorsque le champ magnétique se trouve perpendiculaire au plan de l'interface, le champ électrique se retrouve dans le même plan que l'interface et ne pénètre pas dans le deuxième milieu. Cette onde est de polarisation S et est dite transverse électrique. Afin que le champ électrique pénètre le deuxième milieu, l'onde lumineuse doit être en polarisation P, aussi nommée transverse magnétique TM (Fig.4). Le champ évanescent pénètre dans le deuxième milieu sur une distance de quelques dizaines de nanomètres selon la longueur d'onde utilisée, ce qui explique la sensibilité de l'interface, puisque le champ électromagnétique est présent seulement très près de l'interface et ainsi, seulement un changement d'indice de réfraction en proximité de l'interface influencera ce champ.

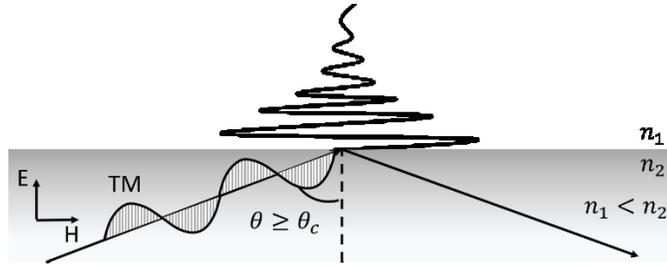


Figure 4. Champ évanescent

Propriétés physiques du plasmon de surface

Le plasmon de surface résulte de l'oscillation collective des électrons de la bande de conduction d'un métal noble excités par un champ électromagnétique oscillant, tel que la lumière. Le plasmon de surface est représenté comme un champ électromagnétique perpendiculaire à la surface métallique. Ainsi, si le film est placé dans un plan XY, le plasmon se propage dans les deux directions parallèlement à l'interface métal/diélectrique. Sur une surface large, les ondes du plasmon de surface s'atténuent sur une distance de quelques microns dans les axes XY (fig.5). Un film métallique peut supporter un plasmon de surface uniquement si la partie réelle de sa constante diélectrique (ϵ_m) est négative.

$$\epsilon_m = \epsilon' + i\epsilon'', \epsilon' < 0 \quad (7)$$

Où ϵ' représente la partie réelle et ϵ'' la portion imaginaire. De plus, la portion réelle se doit d'être plus grande que la constante diélectrique du milieu diélectrique.

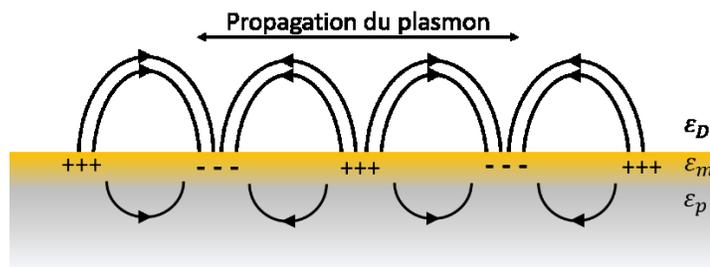


Figure 5. Propagation du plasmon

Généralement, les matériaux plasmoniques font référence à l'or et l'argent, mais le cuivre, le platine, le palladium et l'aluminium peuvent être utilisés. L'or et l'argent sont fréquemment utilisés en plasmonique, puisqu'ils peuvent supporter l'excitation de leur plasmon

de surface par un faisceau lumineux du domaine visible et du proche infrarouge (vis : 400-700 nm, IR : 700-2500 nm).

Résonance du plasmon de surface

En effet, il est possible d'exciter le plasmon de surface à l'interface du métal et du diélectrique. L'excitation du plasmon de surface est grandement régie par la constante diélectrique, et ainsi l'indice de réfraction, d'une mince couche du média recouvrant l'interface. Ainsi, le vecteur d'onde du plasmon de surface (k_{sp}) et de la lumière en réflexion totale interne (k_{ph}) sont polarisés transverse magnétique, ce qui implique que le champ magnétique est parallèle au plan du film et que le champ électrique pénètre dans le deuxième milieu. Les vecteurs d'onde du plasmon de surface et de la lumière incidente obéissent aux relations de dispersion suivantes :

$$k_{sp} = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_s}{\epsilon_m + \epsilon_s}} \quad (8)$$

$$k_{ph} = \frac{2\pi}{\lambda} \eta_D \sin \theta_{inc} \quad (9)$$

Où ϵ est la constante diélectrique de la solution (s) et du métal (m), η_D est l'indice de réfraction du prisme, $\frac{2\pi}{\lambda}$ est le vecteur d'onde de la lumière et θ_{inc} est l'angle d'incidence. Afin d'avoir une résonance du plasmon de surface, le vecteur d'onde et la fréquence du plasmon de surface doivent être égal à ceux de la lumière ($k_{sp} = k_{ph}$) pour entrer en résonance. Par contre, le vecteur d'onde de la lumière dans l'air et dans l'eau sera toujours trop petit pour entrer en résonance avec le vecteur d'onde du plasmon de surface tel qu'illustré à la figure 6.²⁴ Afin d'augmenter le vecteur d'onde du photon, le faisceau de lumière doit être en réflexion totale interne dans un milieu d'indice de réfraction élevé, tel le verre. L'utilisation d'un prisme permet l'augmentation du moment de k_{ph} qui est incrémenté d'un facteur de $\sqrt{\epsilon}$ ou η_D , afin de créer l'égalité entre le vecteur d'onde de la lumière et du plasmon de surface.

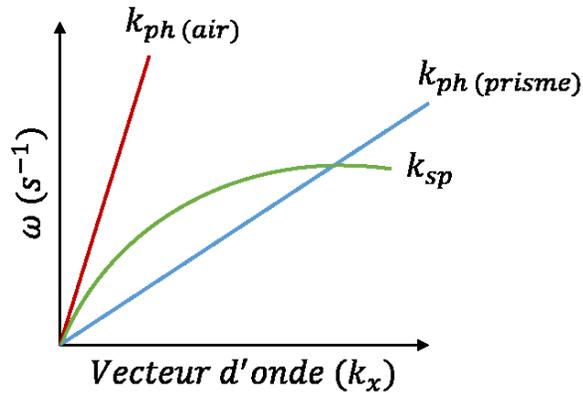


Figure 6. Schématisation du module de la valeur du vecteur d'onde de la lumière et du plasmon de surface dans l'air et dans un prisme d'indice de réfraction plus élevé

Dans les conditions spécifiques, le vecteur d'onde du photon entre en résonance avec le vecteur d'onde du plasmon, c'est-à-dire que le champ électromagnétique de la lumière incidente polarisée-p pénètre dans la couche métallique. Ce transfert d'énergie aux électrons du métal induit l'excitation du plasmon de surface à l'interface métal/diélectrique. Le transfert d'énergie est observé comme une diminution de l'intensité de la lumière réfléchie pour un couple d'angle d'incidence/longueur d'onde donné. Ainsi, l'excitation du plasmon de surface est donc indiquée par le minimum de la bande SPR dans la courbe de réflectivité, représentant l'absorption du photon dans la couche métallique. La présence du phénomène SPR est observée par le minimum dans le spectre de réflexion (fig.10).

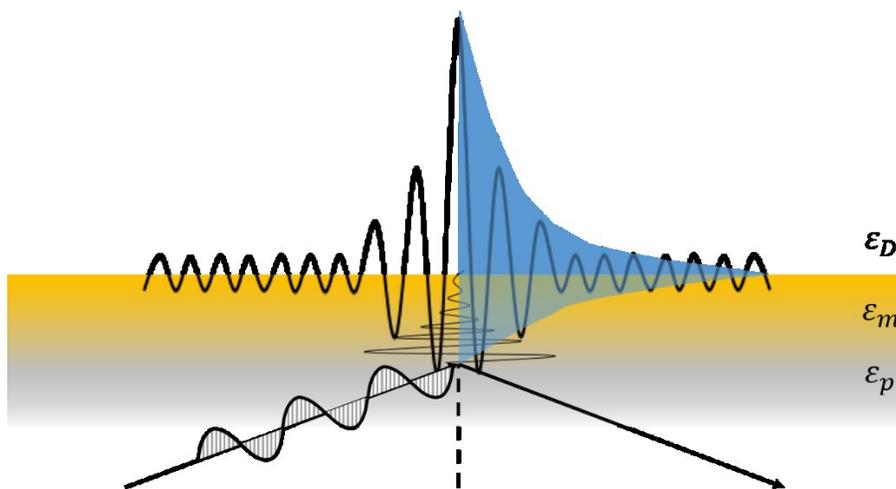


Figure 7. Schématisation de la résonance des plasmons de surface

Le plasmon de surface excité sonde localement l'indice de réfraction à la surface et pénètre dans la solution et décroît exponentiellement avec des longueurs de décroissance de $1/e$ de l'ordre de 200 nm (fig.7). La distance de pénétration, d_p , dans le milieu diélectrique suit l'expression suivant :

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi(\epsilon'_{prisme} \sin^2 \theta - \epsilon'_{diélectrique})^{1/2}} \quad (10)$$

Grâce à leur propagation en surface et à leur nature électromagnétique, les plasmons de surface augmentent l'intensité du champ électrique évanescent.²⁵

Plasmon de surface localisé

Lorsque la surface disponible pour la propagation du plasmon est plus petite que la distance de propagation ($< \mu\text{m}$), le phénomène de plasmon de surface localisé (LSPR) se produit.²⁶ Ce phénomène survient généralement pour des nanoparticules et nanomatériaux ayant une dimension beaucoup plus petite que la longueur d'onde de la lumière visible et fait de métaux nobles pouvant supporter un plasmon.²⁷ Les électrons de ces nanoparticules soumises au champ électromagnétique sont attirés ou repoussés par ce champ, influencés par la polarité de celui-ci. L'oscillation des nanoparticules peut suivre certains modes et générer un dipôle électrique (fig.8). Ainsi, le champ électrique de la lumière peut entrer en résonance avec le dipôle de la nanoparticule. Le champ du plasmon de surface entre en résonance pour certaines longueurs d'onde ou pour un ensemble de longueurs d'onde spécifique, dépendant des facteurs de l'équation 11.

$$E(\lambda) = \frac{24\pi N a^3 \epsilon_s^{3/2}}{\lambda \ln(10)} \left[\frac{\epsilon''_m}{(\epsilon'_m + \chi \epsilon_s)^2 + (\epsilon''_m)^2} \right] \quad (11)$$

Où E est le coefficient d'extinction des nanoparticules à une longueur d'onde λ donnée, N est le nombre de particules, a est le rayon des nanoparticules, ϵ_s correspond à la constante diélectrique de la solution, ϵ'_m et ϵ''_m sont respectivement les parties réelle et imaginaire de la constante diélectrique du métal et χ est le facteur de forme des nanoparticules. Ainsi, l'absorption de lumière lors de l'excitation du plasmon de surface localisé est définie par l'équation 11. Puisque les nanoparticules sont de plus petite taille que la longueur d'onde de la lumière, l'excitation des nanoparticules est indépendante de l'orientation du photon.

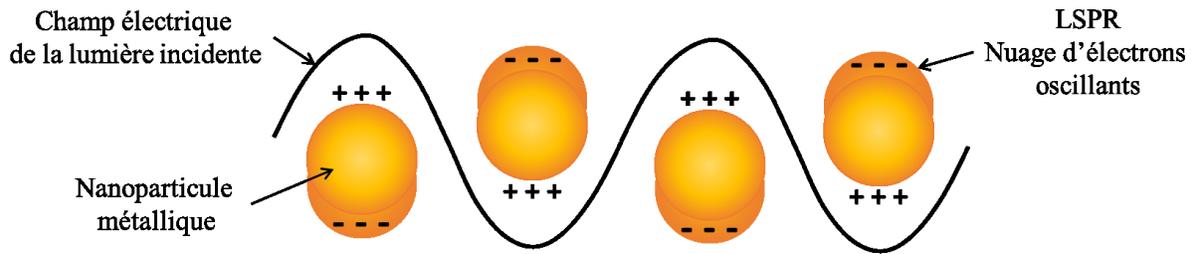


Figure 8. L'excitation du plasmon de surface localisé directement avec la lumière visible. L'oscillation du champ électrique induit une polarisation des électrons de conduction de la nanoparticule, qui peut entrer en résonance avec le vecteur d'onde approprié.

Le phénomène LSPR survient sur les nanoparticules libres en solution et immobiles sur un substrat et ne requière pas l'utilisation d'un prisme pour l'excitation du plasmon. Le confinement du champ électrique près de la nanoparticule mène à l'amplification du champ électrique dans la mince région autour de la nanoparticule (10-40 nm).²⁸ La grande intensité du champ électromagnétique induite par le LSPR permet la détection très sensible de petits changements de l'environnement diélectrique autour de la nanoparticule.²⁹ L'absorption et la dispersion de la lumière incidente seront amplifiées et influencées selon la taille et la forme des nanoparticules utilisées. En effet, la taille dicte la distance disponible pour la relaxation du plasmon de surface et affecte la longueur d'onde d'absorption de la lumière.

1.2.3 L'instrumentation SPR

Les instruments de mesures SPR contiennent généralement une source lumineuse, un polariseur, un prisme, une sonde, un détecteur et un ordinateur (fig.9). Différentes configurations d'appareil peuvent être utilisées. La configuration d'Otto possède un espacement entre la couche métallique et la surface TIR comblé avec un matériau à basse densité optique. Cette configuration propose des avantages pour la détection en phase solide, mais la distance entre le métal et la surface en réflexion totale interne (TIR) diminue l'efficacité SPR et est moins utile pour les analyses en solutions.²⁰ Une configuration semblable à Otto utilise aussi un espacement, mais une couche de silice est déposée sur la surface TIR suivi d'une couche de ti-

tane améliorant la réflexion totale interne.³⁰ Dans la configuration Kretschmann, le film métallique est directement déposé sur la surface TIR du prisme, ce qui permet une génération du plasmon de façon plus efficace.^{21, 22}

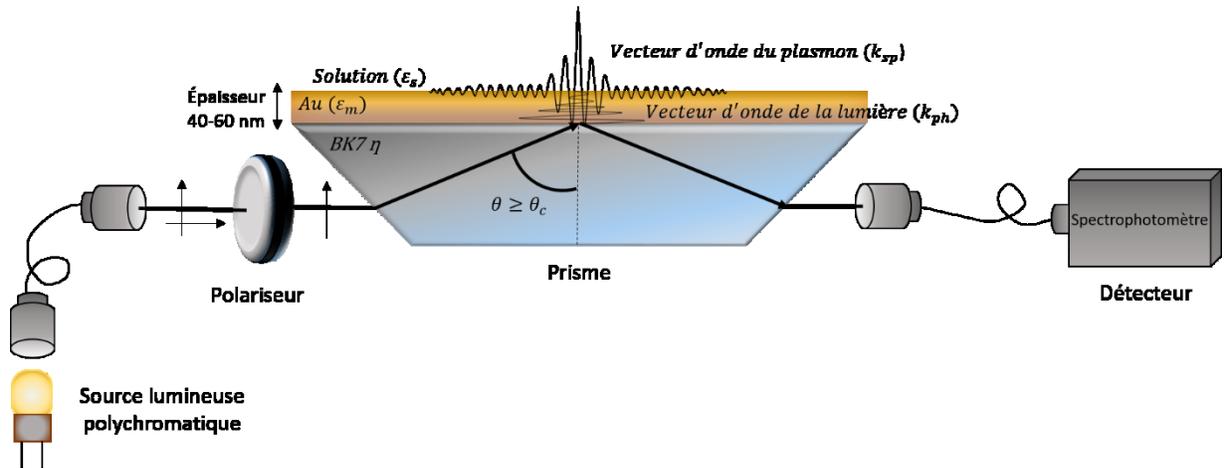


Figure 9. Schéma simplifié de l'instrumentation optique d'un système SPR utilisant un prisme de Dove et en configuration Kretschmann interrogation des longueurs d'onde

L'instrumentation optique permet l'excitation des plasmons de surface par réflexion totale interne, de façon à ce que le champ électromagnétique de la lumière polarisée pénètre dans le deuxième milieu, produisant le champ évanescent qui détecte le changement d'indice de réfraction à la surface du film métallique. Lors d'une mesure SPR, les facteurs tels que le support optique sur lequel le film métallique est déposé (verre BK7, saphir, silice, etc...), la solution submergeant la sonde, le métal (Au, Ag) et l'épaisseur de la couche métallique déposée (~50 nm) restent inchangés tout au long de l'analyse.³¹ Ainsi donc, les variables restantes influençant k_{sp} et k_{ph} afin de satisfaire les conditions d'excitation selon les équations 8 et 9 sont la longueur d'onde (λ) et l'angle d'incidence (θ_{inc}). Les couples λ - θ_{inc} permettant l'égalité $k_{sp} = k_{ph}$ sont déterminés en tenant une des deux variables constantes et en faisant varier la seconde. Il y aura des différences dans le choix du prisme, du détecteur et des pièces optiques selon le mode d'interrogation du système SPR, soit à interrogation des angles ou à interrogation des longueurs d'onde. Les instruments SPR sont développés afin d'analyser l'un des deux paramètres en fixant le deuxième. Ainsi, pour un angle fixe, par exemple, le minimum de la

bande d'absorption SPR se trouve à la longueur d'onde correspondante, où l'égalité $k_{sp} = k_{ph}$ est satisfaite et où le photon est absorbé dans le deuxième milieu. Un spectre typique de la spectroscopie SPR est montré à la figure 10. La sensibilité de la spectroscopie des plasmons de surface réside dans la position du minimum du spectre d'absorption et est minimalement reliée à l'intensité lumineuse, en comparaison aux spectroscopies Raman et de fluorescence qui requièrent une grande puissance de la source.

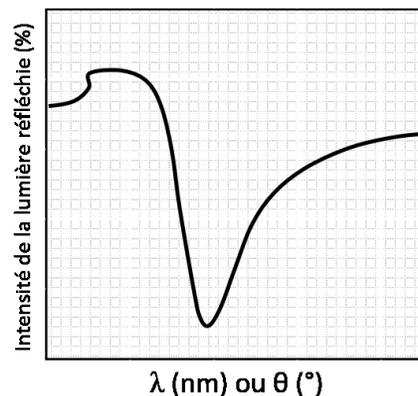


Figure 10. Spectre de réflectance pour l'excitation d'un plasmon de surface via un instrument à interrogation spectrale ou angulaire

Dans le présent mémoire, un système SPR portable développé dans les laboratoires du professeur Masson à l'Université de Montréal³² a été utilisé pour détecter les matériaux énergétiques dans l'eau naturelle. Ce système est de configuration Kretschmann à interrogation des longueurs d'onde. Dans cette configuration, une source polychromatique, de lumière blanche, excite le plasmon au travers un prisme de Dove BK7 avec un angle fixe afin d'obtenir en une seule mesure l'acquisition du spectre SPR en termes de longueur d'onde d'excitation. Les instruments possédant cette configuration ont une résolution moins bonne du minimum de la bande SPR en comparaison avec un système à interrogation des angles. En effet, l'utilisation d'une source polychromatique augmente l'effet de dispersion spectrale dans le prisme des composantes de la lumière incidente. De plus, la lumière incidente collimatée est difficilement envoyée sur le prisme en un seul angle incident. La combinaison de ces deux paramètres augmente le nombre de couples λ - θ_{inc} et ainsi la bande d'absorption est élargie, donnant une résolution de la bande SPR d'environ 10^{-5} ou 10^{-6} RIU (refractive index unit). Malgré tout, la

résolution temporelle est satisfaisante et l'instrument possède plusieurs avantages pour la détection d'explosif dans l'eau naturelle. Entre autres, l'appareil nécessite un alignement instrumental moins complexe et le système peut être facilement miniaturisé, permettant son transport sur le terrain, contrairement aux instruments à interrogation des angles. De plus, comme le faisceau lumineux en configuration Kretschmann reste confiné dans le prisme, la lumière ne sera pas affectée par la turbidité de la solution à analyser, contrairement aux méthodes de fluorescence ou d'absorption UV-vis, où le faisceau traverse la solution. De plus, la dépendance des conditions de résonance démontre le potentiel d'utiliser la SPR pour effectuer des mesures d'indice de réfraction à l'interface entre le métal et la diélectrique. Ainsi, en plus de sa portabilité, le phénomène SPR est une méthode de choix pour l'analyse en milieu complexe.

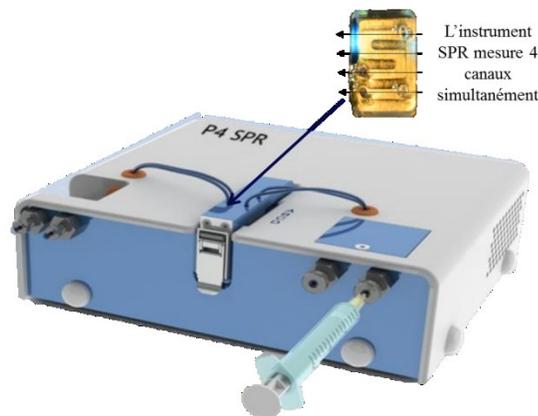


Figure 11. Instrument SPR portable P4-SPR développé dans les laboratoires du professeur Masson à l'Université de Montréal et la microfluidique utilisée sur la sonde SPR.

Le système fluidique permet de faire circuler la solution à analyser dans le système jusqu'à la surface de la sonde SPR. L'injection des diverses solutions peut se faire manuellement à l'aide d'une seringue, ou à l'aide d'une seringue installée sur une pompe mécanique pour une vitesse d'injections constantes ou à l'aide d'une pompe péristaltique afin d'obtenir un débit constant et en continu. Plusieurs matériaux sont utilisés pour la confection d'une cellule fluidique, entre autres le téflon et les polymères malléables qui permettent une bonne étanchéité. La microfluidique ici utilisée est formée de poly(diméthylsiloxane) (PDMS) et est dotée de

quatre canaux pour une détection en simultané de triplicata et d'une référence (fig.11).³³ Les trois premiers canaux sont reliés et en forme de « S », permettant la détection de la même solution en triplicata. Le canal de référence est à part et possède son propre port d'injection, mais est tout de même analysé en simultané et sur la même sonde que la solution analyte. Chaque canal SPR possède sa propre source lumineuse afin de surveiller de façon indépendante les signaux SPR en temps d'analyse. Ayant un canal de référence, les données traitées sont ainsi corrigées en termes de variation de température, d'indice de réfraction et de liaisons non-spécifiques afin de générer un signal spécifique à la molécule cible.

1.2.4 Acquisition d'un spectre

La spectroscopie SPR mesure donc les changements d'indice de réfraction à la surface du film métallique ce qui lui procure la propriété d'un détecteur universel. Par conséquent, la surface doit être modifiée chimiquement afin de discriminer les signaux provenant du milieu complexe et ainsi avoir une sélectivité et une spécificité à l'analyte d'intérêt. En effet, il est possible de greffer un récepteur moléculaire, sélectif à un analyte, à la surface du film métallique afin d'obtenir un capteur SPR spécifique à la molécule en solution. Ainsi, l'analyte en solution sera capté par le récepteur moléculaire lors de l'injection de la solution à analyser.

Afin d'obtenir une sensibilité optimale, l'évènement de capture est généralement situé à moins d'environ 20 nm de l'interface métal/solution, où le plasmon est très intense. Lorsque la molécule d'intérêt est captée par le récepteur, un faible changement d'indice de réfraction est observé et il y aura un déplacement de la position du minimum de la bande d'absorption. Plus l'évènement est important en taille et en nombre, plus le déplacement du minimum sera grand. En effet, la taille de la molécule et sa concentration influence le signal SPR, puisqu'elle occupera un plus grand volume dans la zone sondée par le SPR. La variation du signal est proportionnelle à la quantité d'analytes captés par le récepteur moléculaire.³⁴ Ainsi, il est possible de suivre en temps réel la concentration d'un analyte ciblé dans une solution. En effet, la variation d'indice de réfraction à l'interface se traduit en déplacement du minimum de la bande d'absorption et en résulte un sensorgramme de la différence de la longueur d'onde d'absorption en fonction du temps (fig.12). Ainsi, en injectant différentes concentrations, il est

possible de produire une courbe d'étalonnage et de quantifier la molécule d'intérêt dans un milieu complexe.

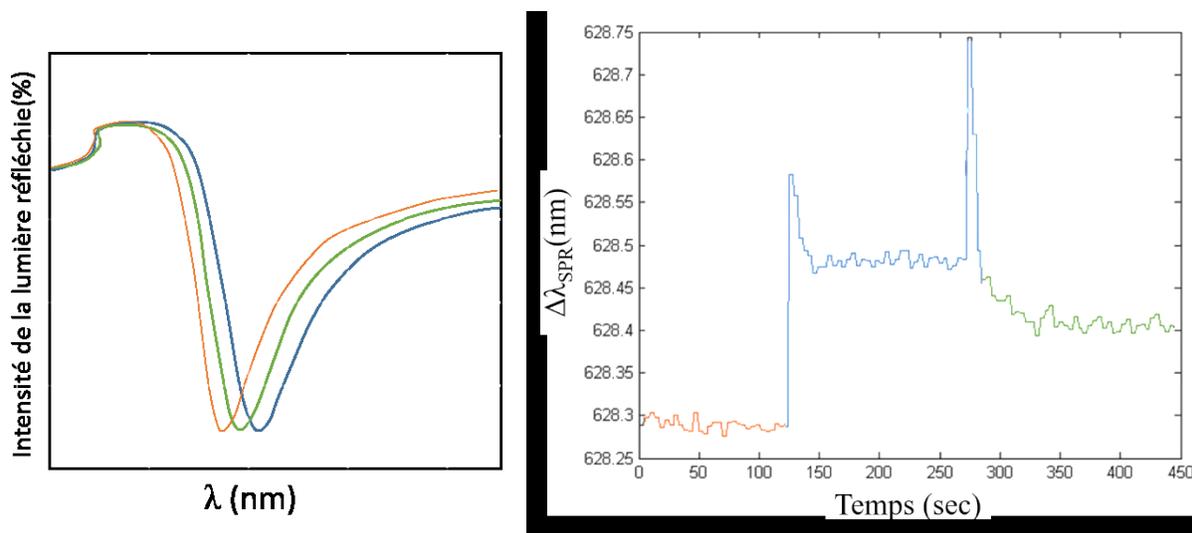


Figure 12. Schématisation d'une acquisition SPR (orange) signal de référence de la solution sans analyte, (bleu) signal de l'analyte dans le milieu complexe, (vert) rinçage

La spectroscopie SPR est généralement utilisée pour la biodétection, où l'analyte se lie avec son récepteur moléculaire biologique tel que les anticorps, les protéines, les peptides, les enzymes et les simples brins d'ADN ou d'ARN. La sensibilité d'un biocapteur est grandement influencée par la chimie de surface de la sonde.³⁵ Plusieurs biocapteurs ont démontré la détection de composés nitroaromatiques à partir d'interactions anticorps-antigène très sensibles en SPR.^{36, 37} Par contre, malgré le progrès des biocapteurs basés sur des éléments de reconnaissances biologiques³⁸, plusieurs limitations sont associées avec certains types d'éléments de reconnaissances.³⁹⁻⁴² La limitation majeure des composés biologiques utilisés comme éléments de reconnaissance est leur instabilité à long terme causée par des variations de température et de pH. Mais encore, les composés d'intérêts ne possèdent pas nécessairement un élément de reconnaissance biologique spécifique, et si par chance ils en possèdent un, le coût de cet élément de reconnaissance peut être élevé. En effet, les aptamères sont une alternative intéressante, mais ne conviennent pas non plus à tous types de molécules et la production peut être coûteuse.⁴³ En tout état de cause, les éléments de reconnaissances biologiques sont certes importants, mais une option robuste, peu coûteuse et réutilisable est à prioriser pour la détection des matériaux énergétiques dans l'eau naturelle et sur le terrain. Les matériaux à empreintes

polymériques offrent plusieurs de ces avantages⁴⁴, incluant des affinités de liaisons comparables aux éléments de reconnaissances biologiques, une stabilité et une robustesse du matériau sous différentes conditions physiques et chimiques et la possibilité de former des sites d'interactions pour des analytes n'ayant pas d'éléments de reconnaissance biologique.⁴⁵

Plusieurs variables environnementales peuvent affecter la mesure SPR sur le terrain. Pour mieux caractériser et saisir les défis que représente l'analyse sur le terrain et en eaux naturelles, quelques études sur l'adsorption spécifique, ainsi que sur l'influence des paramètres environnementaux ont été effectuées et sont décrites au chapitre 3.4 pour la caractérisation de la matrice polymérique. Afin de soustraire l'interférence due aux composantes des eaux naturelles, une matrice polymérique à empreinte moléculaire a été synthétisée à la surface de la sonde afin de cibler les molécules de RDX ou de TNT. Les polymères à empreintes moléculaires suscitent l'intérêt, que ce soit pour leur application dans la séparation sélective, ou bien pour la formation de capteurs permettant la détection de molécules actives, de produits pharmaceutiques ou de polluants environnementaux.^{44, 46, 47} Le polymère à empreinte moléculaire agit comme un élément de reconnaissance sélectif et comme un agent de préconcentration de l'analyte à la surface de la sonde. L'ajout de nanoparticules d'Au dans le polymère à empreintes moléculaires permet de créer un substrat sélectif et sensible pour la détection de matériaux énergétiques par SPR. Il y a formation de cavités spécifiques ayant de fortes affinités de liaison et une restriction géométrique coopérative qui s'associent avec le groupe nitro accepteur d'électrons- π via des interactions π -donneur/accepteur.⁴⁸ Les cavités spécifiques sont formées par la présence d'une molécule empreinte semblable à la molécule d'intérêt. Dans ce cas-ci, l'acide picrique a été utilisé pour la formation du MIP sélectif au TNT et le triacide de Kemp pour la formation du MIP sélectif à la molécule de RDX.^{48, 49} Les nanoparticules d'Au, de moins de 10 nm de diamètre, sont synthétisées et recouvertes de mercaptoéthane sulfonate et de *p*-aminothiophénol. Le film d'or du prisme SPR est recouvert d'une monocouche de *p*-aminothiophénol pour la formation du MIP. Les AuNPs et la molécule empreinte sont électropolymérisées à la surface du prisme SPR fonctionnalisée. Par la suite, la molécule empreinte est extraite du polymère, laissant les cavités spécifiques à l'analyte.⁴⁹

1.3 Polymères à empreintes moléculaires (MIP)

1.3.1 Historique

Le mécanisme de reconnaissance moléculaire entre la molécule cible et le matériau à empreinte moléculaire provient du domaine de l'immunologie et est inspiré du mécanisme de reconnaissance entre l'antigène et l'anticorps. L'idée est originaire de Breinl et Haurowitz et date de 1930.⁵⁰ Le premier scientifique ayant traduit l'idée de l'immunologie à la chimie est Polyakov, qui en 1931 étudiait les gels de silice pour la reconnaissance du benzène, et plus tard utilisait le benzène, le xylène et le toluène comme molécules empreintes.⁵¹ Wulff et Sarhan introduisent la méthode d'empreinte moléculaire covalente en 1972 pour les matériaux organiques polymériques, en utilisant des liens covalents réversibles pour la liaison entre les monomères fonctionnels et la molécule empreinte.^{44, 52} En 1981, Mosbach et Arshady ont publié un article sur la méthode la plus commune, catégorisée comme l'empreinte moléculaire non-covalente qui est basée sur l'interaction non-covalente entre le monomère fonctionnel et la molécule empreinte.^{53, 54}

1.3.2 Théorie de base sur les MIPs

Les polymères à empreintes moléculaires possèdent des cavités spécifiques comme site de reconnaissance de l'analyte permettant l'obtention d'un matériau robuste avec une haute sélectivité pour les molécules cibles.⁵⁵

La formation d'un polymère imprimé commence par le choix du monomère fonctionnel ou d'un groupe de monomères fonctionnels qui possèdent les groupements nécessaires à l'assemblage entre la molécule empreinte et permettre la polymérisation avec les monomères réticulables (fig.13). Si la molécule d'intérêt est soluble dans le solvant utilisé lors de la formation du MIP, ainsi la molécule cible peut être utilisée comme molécule empreinte afin de provoquer la mémoire moléculaire du polymère. Si tel n'est le cas, un analogue à la molécule d'intérêt, dérivée de celle-ci afin de rendre la molécule miscible, doit être utilisé comme molécule empreinte. L'autoassemblage entre les monomères fonctionnels et la molécule empreinte est généralement obtenu suite à des interactions covalentes ou non-covalentes (i.e. liens hydrogène, liaisons dipôle-dipôle, forces de Van der Waals, interactions hydrophobiques ou inte-

ractions ioniques). Plusieurs monomères polymérisables ayant des groupes fonctionnels sont disponibles pour l'assemblage non-covalent, tel que le styrène, l'acrylamine, l'acrylonitrile, etc.⁴² À l'étape de polymérisation, les monomères réticulables forment une structure 3D rigide autour de la molécule empreinte, stabilisant les monomères fonctionnels de façon à obtenir une orientation particulière en respect géométrique avec la molécule d'intérêt. La polymérisation a lieu selon différentes conditions de réactions⁵⁶ spécifiques aux solvants/monomères/réticulant/initiateur choisis (lumière UV, chaleur, initiateur, électrochimie, etc.).⁵⁷

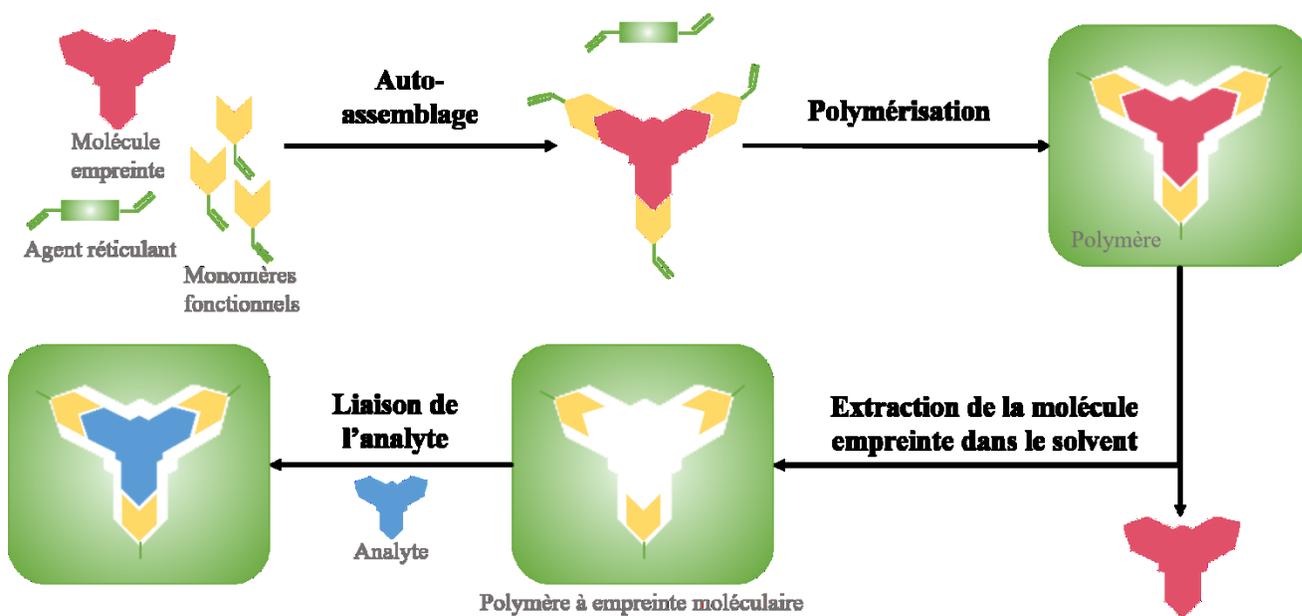


Figure 13. Représentation schématique de la stratégie la plus commune de fabrication du MIP sans lien covalent avec les monomères fonctionnels (), les monomères réticulables (), la molécule empreinte () et l'analyte ()

La dernière étape de fabrication du MIP consiste à l'extraction de la molécule empreinte par un solvant approprié afin de dissocier les liens non-covalents, tandis qu'un clivage est nécessaire pour la méthode à liens covalents. Dans les deux cas, lorsque l'empreinte est extraite, des cavités 3D sont créées dans le polymère. Ces cavités spécifiques sont complémentaires à la molécule d'intérêt pour leur dimension, leur géométrie et leurs fonctionnalités.

1.3.3 Formation du capteur pour la détection d'explosifs

Afin d'obtenir un capteur sélectif pour un analyte, l'élément de reconnaissance moléculaire est combiné à un transducteur pour détecter la liaison avec l'analyte. Ainsi, les MIPs peuvent servir d'éléments de reconnaissance artificiels et peuvent être jumelés à diverses techniques de détection permettant la conversion en signal digital.

Les récents capteurs basés sur la polymérisation à empreintes moléculaires permettant la détection d'explosifs comportent plusieurs techniques incluant la spectroscopie infra-rouge⁵⁸, fluorescence⁵⁹⁻⁶¹ et luminescence⁶², l'immunochimie⁶³⁻⁶⁵ et l'électrochimie^{66, 67}. Récemment, Tancharoen *et al.* utilisèrent les avantages des MIP afin de créer un capteur pour la détection de TNT et de DNT en utilisant une microbalance à cristal de quartz. Le MIPs imprégné sur l'électrode de quartz permet la détection sélective du TNT dans l'acétonitrile pour des concentrations entre 50mM et 500mM.⁶⁸ En 2010, un capteur électrochimique à base de voltampérométrie, utilisant les polymères imprimés, est étudié par Alizadeh *et al.* pour une gamme de concentrations du TNT dans les μM .⁶⁹ Les concentrations détectées par ces techniques demeurent cependant supérieures aux normes environnementales pour les matériaux énergétiques.

Plusieurs molécules telles que la théophylline⁷⁰ sont maintenant détectées grâce à la combinaison entre les MIPs et la SPR. D'autres études démontrent la détection d'explosifs à des concentrations aussi faibles que les nM et même les pM en utilisant la SPR combinée au MIPs.⁷¹ En ajoutant des nanoparticules au polymère à empreintes moléculaires, Riskin *et al.* combinèrent l'électrochimie et les capteurs optiques pour une détection du TNT et du RDX dans les ppb.^{48, 49, 66} En combinant la sensibilité, la portabilité et la détection en temps réel de la SPR avec la sélectivité et la robustesse des MIPs comme élément de reconnaissance moléculaire, il est possible de créer un capteur à faible coût permettant la détection d'explosifs dans l'eau naturelle.

1.4 Directions et perspectives du mémoire

L'objectif de la recherche présentée dans ce mémoire était de développer un capteur SPR pour la détection d'explosifs dans les eaux naturelles en proximité des champs de tir de

l'Armée canadienne. Ce mémoire présentera, en 5 chapitres, le cheminement afin d'arriver à la détection d'explosifs directement dans l'eau naturelle et sur le terrain. Le développement d'une matrice polymérique de nanoparticules d'or, avec empreinte moléculaire sur la surface de la sonde du système SPR portable, donne la possibilité d'analyser la qualité des eaux souterraines en temps réel, afin de minimiser les impacts environnementaux causés par l'entraînement militaire.

Au cours du projet, plusieurs étapes ont été nécessaires pour le développement de la sonde SPR capable de quantifier le RDX dans l'eau naturelle, entre autres, l'optimisation des conditions d'électropolymérisation, la caractérisation de la matrice polymérique, l'obtention d'une courbe d'étalonnage adéquate, la création d'un protocole de mesure sur le terrain, l'échantillonnage et l'analyse d'échantillons réels.

Un chapitre sera dédié à la description des méthodes expérimentales nécessaire pour mettre au point le matériau nanostructuré 3D amplifiant la réponse SPR et extrayant les matériaux énergétiques (MEs). En effet, la technique de détection des MEs dans les eaux sera développée par la mise au point d'un matériau SPR basé sur la copolymérisation de nanoparticules servant de matrice de pré-concentration à la surface de la sonde SPR. Dans ce chapitre, la formation de la surface plasmonique, des nanoparticules d'or, ainsi que de la matrice à reconnaissance moléculaire seront décrites en détail, en plus de la détection du RDX dans les eaux naturelles et du développement d'une courbe d'étalonnage optimale.

Dans le chapitre 3, la matrice polymérique sera étudiée par diverses techniques de caractérisation^{55, 72} comprenant les microscopies à champ sombre (Darkfield), à balayage électronique (SEM) et à force atomique (AFM), ainsi que la spectroscopie SPR et l'ellipsométrie. La SPR permettra, dans un premier temps, de valider l'ajout de la couche polymérique suite à l'électropolymérisation par un déplacement bathochromique de la bande d'absorption. Dans un deuxième temps, la SPR informera sur l'efficacité et la sélectivité du MIP dans un mélange complexe. Les analyses SPR seront préalablement effectuées en laboratoire afin de mieux saisir les enjeux liés à l'analyse sujette aux variations sur le terrain (température, sels, pH) et directement dans l'eau naturelle. Le microscope à champ sombre fournira des informations sur la présence de nanoparticules d'or à la surface, et ainsi une preuve de la polymérisation sur la sonde. La SEM servira à observer et comprendre les aspects physiques du polymère à la sur-

face du prisme SPR et plus en détail, l'AFM donnera des informations sur l'épaisseur de la couche polymérique.⁷³

Finalement, le chapitre 4 sera consacré à la détection de RDX dans les eaux naturelles. L'instrument SPR portable sera utilisé pour la quantification de RDX tout d'abord en laboratoire, où un environnement réel sera recréé. Puis par la suite, l'appareil SPR portable sera déployé sur le terrain d'une base militaire canadienne lors de trois campagnes d'échantillonnage. De ce fait, il sera possible de vérifier la robustesse de l'appareillage selon différents climats, de mieux comprendre les enjeux de l'échantillonnage et de l'analyse extérieurs, de développer une méthode de détection des explosifs dans l'eau naturelle et de valider la méthode de quantification des MEs présents dans le réseau de puits afin de les comparer à la méthode normalisée (EPA 8330B).

Chapitre 2 : Partie expérimentale

Dans ce chapitre, il est question des étapes préalables à la quantification de RDX en eaux naturelles et sur le terrain. En effet, la conception du capteur, incluant la synthèse de nanoparticules d'or, la formation du MIP par électropolymérisation et la caractérisation de celui-ci, sera décrite en détails dans les prochains paragraphes, suivis par l'analyse en laboratoire du RDX et de l'optimisation du traitement de données. De plus, les manipulations nécessaires lors de l'utilisation d'eaux naturelles, telles que l'échantillonnage, le transport, l'entreposage et les manipulations en laboratoire, seront détaillées dans ce chapitre.

2.1 Formation de la matrice polymérique

La formation de la matrice polymérique s'effectue sur un prisme ayant une couche d'or d'environ 50 nm, plusieurs étapes ont été effectuées afin d'obtenir un polymère à empreinte moléculaire (fig. 14). Tout d'abord, il y a la formation homogène de la monocouche de 4-aminothiophénol sur la surface du prisme recouvert d'une couche d'or (1). La monocouche de 4-aminothiophénol est reliée de façon covalente à la surface d'or à l'aide de liens thiol-or. Par la suite, les nanoparticules d'or fonctionnalisées au mercaptoéthane sulfonate et au 4-aminothiophénol sont polymérisées sur la monocouche et forment une matrice 3D de bis-aniline réticulée en présence des molécules empreintes (2). À l'étape 3, les molécules empreintes sont ensuite extraites pour former des cavités spécifiques (3).

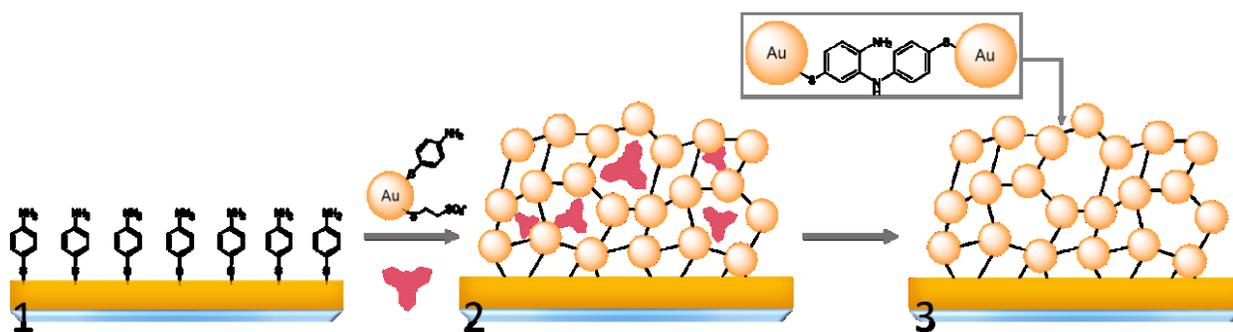


Figure 14. Schéma de la formation de la matrice de polymère à empreinte moléculaire avec AuNPs  et la molécule empreinte  1) Fonctionnalisation 2) Électropolymérisation 3) Extraction de la molécule moule

2.1.1 Synthèse de nanoparticules d'or (AuNPs) 3.5 nm

Afin d'effectuer la synthèse de nanoparticules d'or ayant 3,5 nm de diamètre, les deux solutions suivantes sont préparées; 10 mL d'une solution 0.05 M de HAuCl_4 dans l'éthanol et 5 mL contenant du 4-aminothiophenol à 1.6 mg/mL et du sodium mercaptoéthane sulfonate à 8.4 mg/mL dans du méthanol. La solution de 4-aminothiophénol est recouverte de papier d'aluminium, puisqu'elle est sensible à la lumière. Lors de la préparation de la solution de HAuCl_4 , aucun matériau oxydant tel que du métal n'est utilisé. Une fois les deux solutions préparées, un ballon de 50 mL et un agitateur magnétique sont lavés trois fois avec de l'*aqua regia* (HNO_3/HCl 1 :3, *Attention! Extrêmement corrosif*) et sont rincés 10 fois avec de l'eau ultrapure. Le ballon est ensuite recouvert avec du papier d'aluminium. Dans le ballon, les deux (2) solutions en plus de 2,5 mL d'acide acétique glaciale sont introduites et sont agitées dans un bain de glace pendant 1 h. Pendant ce temps, il est possible de préparer 7,5 mL d'une solution de NaBH_4 à 1 M dans l'eau (*Attention! Il y a dégagement de H_2*). Une fois le 1 h écoulé, la solution de NaBH_4 est introduite goutte à goutte dans la solution. Un changement de couleur de jaune à brun foncé est observé et un dégagement gazeux se produira. La solution est agitée pendant 1 h supplémentaire. Ensuite, le ballon est retiré du bain de glace et la solution est agitée pendant 14 heures. Après 14 heures, la solution est transférée dans des tubes pour centrifugeuse. Il ne faut pas rincer avec de l'eau. La solution est centrifugée à vitesse maximale pendant 10 min. Le surnageant acide est enlevé, il les nanoparticules sont lavées et centrifugées 2 fois avec MeOH, EtOH et de l'éthyl éther. Le surnageant est ensuite décanté et les nanoparticules sont laissées sous la hotte afin d'évaporer l'éthyl éther restant. Une fois sèche, les nanoparticules (Figure 15) sont transférées dans un vial, bien fermé et recouvert de papier d'aluminium. Les nanoparticules sont conservées au réfrigérateur à 4°C.

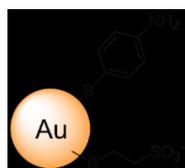


Figure 15. Schéma AuNPs fonctionnalisées au 4-aminothiophénol et sodium mercaptoéthane sulfonate

2.1.2 Formation du capteur avec polymère à empreintes moléculaires

Lavage des prismes au Piranha

Les prismes de Dove BK7 sont baignés dans une solution de Piranha (1 :3 H₂O₂/H₂SO₄, Attention! Extrêmement corrosif) chaude pendant 1h30 dans un grand bécher rempli à moins de la moitié. Les prismes sont ensuite bien rincés avec de l'eau au moins 5 fois puis avec de l'éthanol. Les prismes sont conservés dans un contenant de verre et immergés dans l'éthanol.

Déposition d'or sur les prismes

Les prismes sont d'abord rincés avec de l'eau déionisée et ensuite avec de l'éthanol, puis séchés avec un jet d'azote afin d'éviter toutes traces hétérogènes sur les prismes. Les 10 prismes sont placés sur le support de façon à cacher les parois latérales et le dessous des prismes. Les prismes sont introduits dans le pulvérisateur cathodique (Cressington 308HR) et la déposition des couches métalliques s'effectue par pulvérisation. La déposition de la couche adhésive de cuivre est d'environ 35sec, suivi de 2 minutes d'or, ou jusqu'à l'obtention d'une belle bande plasmonique vers 620 nm vérifiée par SPR avec de l'eau distillée.⁷⁴ Le temps de déposition pour 10 prismes correspond à environ 45 minutes incluant les procédures pour le pulvérisateur cathodique.

Fonctionnalisation de la couche d'or avec le 4-aminothiophenol

Les prismes recouverts d'or sont lavés dans l'éthanol pendant 30 minutes à 50°C. Les prismes propres sont ensuite immergés dans une solution de 4-aminothiophenol 0.05 M dans l'éthanol pendant 24 hrs. La formation des liens covalents entre le thiol et l'or de la monocouche de 4-aminothiophénol est optimale sur une surface plane et stabilisée, ainsi que dans un contenant recouvert de papier d'aluminium afin de réduire la décomposition de la molécule suite à l'exposition de la lumière. Une fois le 24 hrs de fonctionnalisation terminé, les prismes sont rincés avec de l'éthanol, et conservés dans un pétri au sec et à l'abri de la lumière recouvert encore une fois avec du papier d'aluminium. Les prismes fonctionnalisés possèdent une faible durée de vie et il est préférable d'effectuer l'électropolymérisation la journée suivant la fonctionnalisation.

Électropolymérisation

La solution d'électropolymérisation contient 1 mg/mL de AuNPs  et 5 mg/mL de la molécule empreinte  (Triacide de Kemp's pour RDX)⁴⁸ dans HEPES 0.1 M pH 7.2. La solution de AuNPs est bullée pendant 10 min sous azote dans un vial recouvert. Les électrodes utilisées lors de l'électropolymérisation sont : une mesh de platine comme électrode auxiliaire, préalablement lavée (1. Un cycle de -810 mV à 2000 mV à -810 mV dans 0.5 M H₂SO₄. 2. Plus de 10 cycles de -610 mV à 1000 mV à -610 mV dans 0.5 M H₂SO₄ à 50 mV/min), l'électrode de travail est la sonde SPR connectée avec une bande de cuivre autoadhésive sur la surface d'or, et le fil d'argent agit comme électrode de référence.

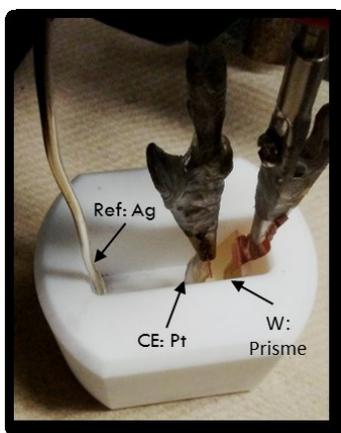


Figure 16. Cellule électrochimique en Teflon et les électrodes de quasi-référence (Ref), la contre électrode (CE) et l'électrode de travail (W)

Les électrodes sont installées dans la cellule électrochimique en Teflon conçue sur mesure (fig. 16) de façon à ce que la mesh de platine soit le plus près possible de la surface d'or de la sonde SPR (environ 3mm). La solution contenant les nanoparticules est ajoutée dans la cellule en Teflon pour bien recouvrir le prisme sans que le cuivre ne touche à la solution. L'électropolymérisation est réalisée avec 10 cycles voltampérométriques entre -0.35V et 0.8V vs l'électrode de quasi-référence Ag pour une vitesse de scan de 100 mV/s, suivi d'un chronoampérogramme à 0.8V pour 30 min (fig. 17). Le prisme SPR est ensuite rincé à l'eau. La durée pour l'étape d'électropolymérisation est d'environ 1 heure par prisme.

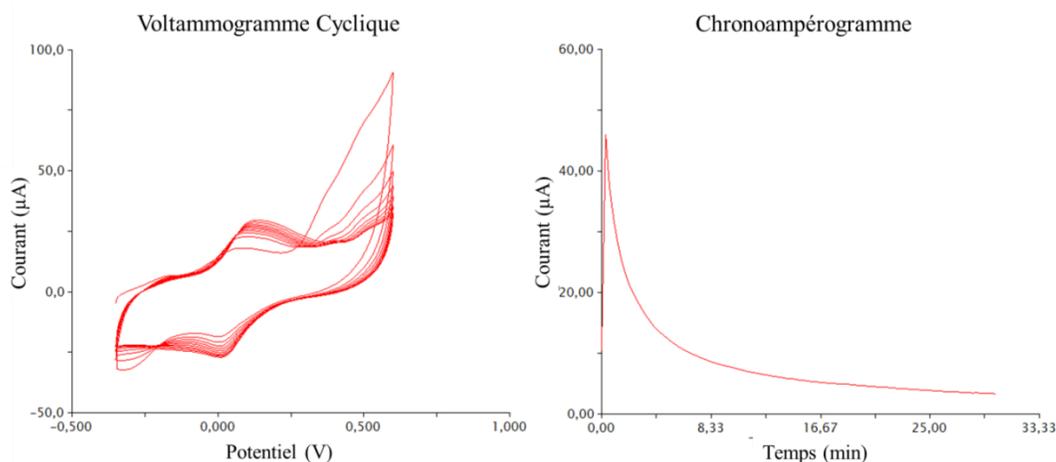


Figure 17. Voltammogramme cyclique et chronoampérogramme obtenus lors de l'électropolymérisation de la surface d'or fonctionnalisée de la sonde SPR

Extraction de la molécule empreinte

Suite à l'électropolymérisation, les prismes sont directement déposés dans un pétri recouvert de papier d'aluminium et immergés dans une solution de HEPES 0.1 M pH 7.2 pendant 12 heures à la température ambiante, puis 2 heures à 40°C dans une solution fraîche de HEPES 0.1 M pH 7.2, puis un 12 heures supplémentaire dans une solution fraîche de HEPES 0.1 M pH 7.2. Les prismes sont ensuite rincés à l'eau désionisée. Le temps d'extraction est déterminé à l'aide de mesures HPLC-UV d'un volume constant de la solution d'extraction. Les résultats sont démontrés en annexe. Le temps total de l'étape d'extraction correspond à 2 jours. Les prismes sont conservés au sec et à l'abri de la lumière. Le MIP est robuste et les analyses peuvent s'effectuer plusieurs mois suivant la formation de la couche polymérique.

2.2 Caractérisation de la matrice polymérique

Suite à la polymérisation du MIP sur le capteur SPR, la matrice a été sujette à diverses mesures de surface à des fins de caractérisation. Les images SEM ont été acquises à l'aide d'un microscope à balayage électronique JEOL 7400F disponible à l'Université de Montréal. L'imagerie à champ sombre est effectuée sur une surface de verre ITO, modifiée suivant les mêmes procédures que le capteur SPR. Les images ont été prises à l'aide d'un microscope à champ sombre équipé d'une imagerie hyperspectrale disponible dans les laboratoires du professeur Kevin J. Wilkinson. Les images optiques et les données hyperspectrales ont été ac-

quises en utilisant un microscope Olympus BX43 et un système d'illumination avec une analyse hyperspectrale intégrée CytoViva et une caméra Andor iXon3 afin d'obtenir des images de 512 par 512 pixels. Les données spatiales et spectrales (λ entre 400 et 1000 nm) ont été acquises à 100x correspondant à une taille de pixel de quelques centaines de nanomètres. De plus, des plaques de nanodisques recouvertes d'une couche d'or sont modifiées suivant les mêmes procédures d'électropolymérisation du MIP et des images de microscope à force atomique (AFM, Witec) sont acquises en mode contact afin d'avoir une estimation de l'épaisseur du recouvrement du MIP.

2.3 Échantillonnage d'eau naturelle sous-terrainne et entreposage

Tout d'abord, les eaux naturelles ont été échantillonnées à partir des puits d'observation de l'eau souterraine aménagés conformément aux exigences du Ministère de la Défense nationale (MDN) et établis par Richard Martel hydrogéologue à l'ETE-INRS. Chaque puits d'observation est muni d'une crépine en polychlorure de vinyle (PVC) de 51 mm de diamètre, dont les ouvertures ont un diamètre de 0,25 mm, d'une longueur variant entre 1,5 et 3,0 m, ainsi que d'un protecteur hors-sol en polyéthylène haute densité (PEHD). L'espace annulaire entre la crépine et les parois du forage a été comblé par du sable de silice grade 1 de manière à créer un massif filtrant jusqu'à 0,5 m au-dessus de la crépine. Un bouchon scellant de bentonite concassée d'une épaisseur variant entre 0,20 et 0,65 m a été aménagé au-dessus du massif filtrant. Un coulis de ciment-bentonite a ensuite été utilisé pour combler l'espace entre le tubage de PVC et la paroi de forage, et ce, jusqu'à la surface. Tous les puits d'observation ont été terminés en surface par un tubage protecteur hors sol en PEHD muni d'un couvercle en aluminium pouvant être cadenassé. L'échantillonnage des eaux souterraines est ainsi effectué selon le protocole à faible débit.⁷⁵ Avant l'échantillonnage, les puits d'observation ont été purgés en extrayant au minimum 2 fois le volume d'eau contenu dans chaque puits, et ce, jusqu'à ce que les paramètres de température, d'oxygène dissous, de potentiel d'oxydoréduction, de conductivité électrique et de pH soient stabilisés. La purge et l'échantillonnage ont été effectués par Clarisse Deschênes-Rancourt de l'ETE-INRS et à l'aide de pompes à inertie WaterraMD dédiées à chaque puits d'observation.⁷⁵ Les échantillons d'eau contaminés ont été recueillis des puits B-5m, C-5m, D-5m et E-5m, tandis que l'eau non contaminée provient du puits en amont du courant souterrain. (fig. 33). Les échantillons d'eau

recueillie ont été transportés dans des contenants en verre ambré, mainte fois rincés, sans ajout de bisulfite et sont entreposés dans la chambre froide ayant approximativement une température de 4°C. Pour l'eau naturelle non contaminée, une quantité de 200 L a été prélevée et recueillie dans des chaudières de plastique aussi mainte fois rincées et entreposées dans la chambre froide. Une petite quantité d'eau non contaminée est tout de même échantillonnée dans un contenant en verre ambré afin de respecter les conditions d'entreposage des échantillons d'eau contaminés et non contaminés. Le lavage des contenants d'entreposage est important afin de réduire la contamination au contact de l'échantillon, pour les contenants de plastique et de verre. Le contenant doit être lavé afin d'éliminer les résidus d'échantillons précédents. Ainsi, le contenant est immergé dans un bain d'acide nitrique 10% v/v approximativement pendant 12 heures et il est bien rincé trois fois avec de l'eau désionisée. Par la suite, le contenant est laissé sécher à l'envers approximativement 12 heures.¹⁴

2.4 Détection de RDX par spectroscopie de résonance des plasmons de surface

2.4.1 Analyses SPR

Les mesures SPR sont effectuées à l'aide de l'instrument P4-SPR portable d'Affinité Instrument. Le dispositif est léger (<1.5 kg), compact (175mm x 155mm x 55mm) et peut être déployé sur le terrain. Un prisme SPR Dove en BK7 (20mm x 12mm x 3mm) recouvert d'or est utilisé comme surface de détection et de reconnaissance moléculaire. Le prisme est recouvert d'une cellule fluïdique comprenant trois canaux de détection et un canal de référence. Les prismes sont fonctionnalisés avec le MIP sélectif pour RDX adapté à partir d'une procédure précédemment publiée^{48, 49}, détaillée au chapitre 2.1. Les capteurs SPR ont été testés avec des concentrations connues allant de 1 pM à 50 nM en faisant circuler séquentiellement les différentes concentrations sur le capteur SPR à 1mL/min en utilisant une pompe péristaltique. Les solutions étalons ont été préparées dans de l'eau naturelle recueillie à partir d'un puits non contaminé situé à proximité du site d'échantillonnage. Pour l'analyse sur le terrain, le capteur SPR a été calibré avec un étalon de 1 à 50 nM, une plage chevauchant la limite EPA et la concentration attendue dans les échantillons naturels. La réponse de chaque capteur a été normalisée

avec la réponse d'un échantillon RDX 10 nM. L'influence de la température sur la sensibilité de la courbe d'étalonnage a été mesurée en laboratoire de 2°C à 36°C.

2.4.2 Réalisation de la courbe d'étalonnage

Au cours des travaux effectués lors de ce projet de maîtrise, les différentes étapes de la formation du MIP sur la sonde SPR ont été sujettes à plusieurs optimisations. En effet, il a été établi que le film d'or doit être bien lavé à l'EtOH et ensuite fonctionnalisé avec le 4-aminothiophénol afin de permettre la formation efficace et homogène du MIP à la surface. L'électropolymérisation doit faire suite à la fonctionnalisation afin d'avoir un prisme fraîchement fonctionnalisé. Une fois électropolymérisé, le prisme peut être entreposé plusieurs jours. Lors de l'électropolymérisation, plusieurs précautions sont établies. Effectivement, la solution de HEPES se doit d'être fraîchement préparée; la solution d'électropolymérisation est bullée avec de l'azote pour au moins 10 min avant la polymérisation; lors de la polymérisation, la solution est non agitée; la position de l'électrode auxiliaire doit être assez près de la surface d'or et doit posséder une grande surface tel qu'un grillage (mesh) contrairement à un fil de platine; la cellule de Teflon est optimale pour un faible volume de solution d'électropolymérisation et la commodité de l'installation des électrodes. De plus, les temps d'extraction de la molécule empreinte ont été optimisés, confirmés selon la disparition de l'acide de Kemp de la solution d'extraction contrôlé par HPLC-UV.

En second lieu, plusieurs méthodes d'obtention d'une courbe d'étalonnage ont été expérimentées. Chaque mesure repose sur l'utilisation d'eau naturelle échantillonnée composée de solutions étalons de RDX en différentes concentrations connues. La concentration du RDX influe sur l'indice de réfraction de l'interface polymérique lorsque la molécule se lie à la matrice, résultant en un déplacement bathochromique de la bande d'absorption SPR. Quatre différentes courbes d'étalonnage en SPR sont élaborées avant l'acquisition de la courbe d'étalonnage optimale.

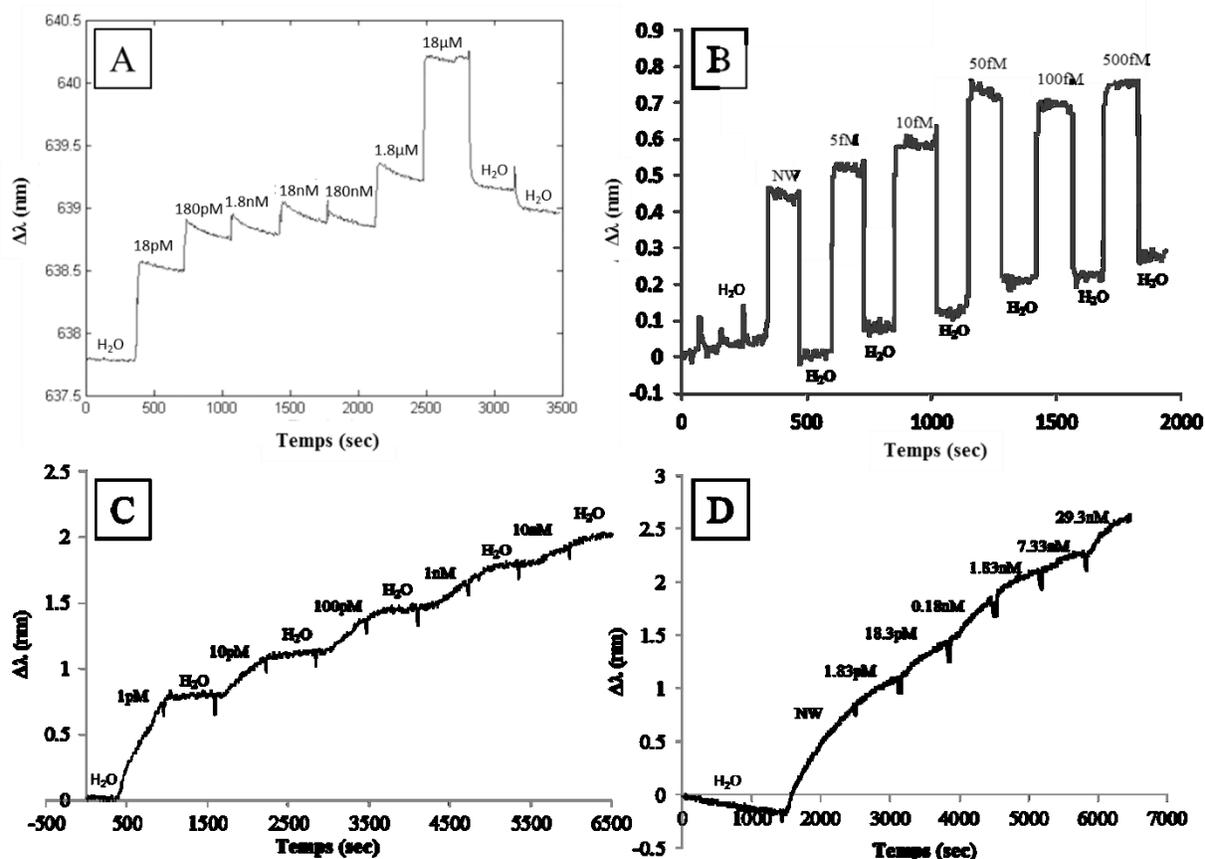


Figure 18. Courbes d'étalonnage A) avec injection manuelle pour [RDX] entre 4 ppt et 4 ppm, B) avec injection manuelle et rinçage à l'eau distillée pour [RDX] entre 5 fM et 500 fM, C) avec injection à la pompe péristaltique à 1 mL/min et rinçage à l'eau distillée pour [RDX] entre 1 pM et 10 nM et D) avec injection à la pompe péristaltique à 1 mL/min pour [RDX] entre 1.83 pM et 29.3 nM dans l'eau naturelle

Tout d'abord, les premières courbes d'étalonnage utilisées, Figure 18A, consistent en l'acquisition du signal SPR, suite à l'injection manuelle à la seringue de différentes concentrations de RDX dans l'eau naturelle commençant dans les femto-molaires jusqu'aux nano-molaires.⁴⁸ Un temps de stabilisation de 5 minutes entre les injections permet la formation d'un plateau pour chaque concentration injectée en temps réelle. Ainsi, il est possible d'associer un déplacement de bande plasmonique pour une concentration en RDX, lorsque le signal SPR pour l'eau distillée est soustrait du signal SPR de la concentration en RDX. Le signal obtenu peut être rincé avec de l'eau distillée entre chaque mesure afin de discriminer la contribution des eaux naturelles complexes au signal SPR comme vu en B. Néanmoins, cette

méthode d'étalonnage comporte certains désavantages. Effectivement, la courbe d'étalonnage ne couvre pas la concentration indiquée comme étant la norme environnementale de façon à ce que la valeur de celle-ci soit vers le centre de l'abscisse. Les courbes d'étalonnage C et D sont effectuées en faisant circuler séquentiellement les différentes concentrations sur le capteur SPR à 1mL/min en utilisant une pompe péristaltique. Dans les deux cas, la réponse SPR est semblable dans la même plage dynamique et la sensibilité est équivalente. La principale différence réside dans la stabilité de la ligne de base, bien supérieure lors de l'utilisation de la pompe péristaltique. La vitesse de réaction est plus élevée lors de l'injection manuelle, aucune isotherme n'est observée, ce qui pourrait être dû à un changement plus rapide de la solution dans la cellule fluïdique qu'avec la pompe péristaltique.

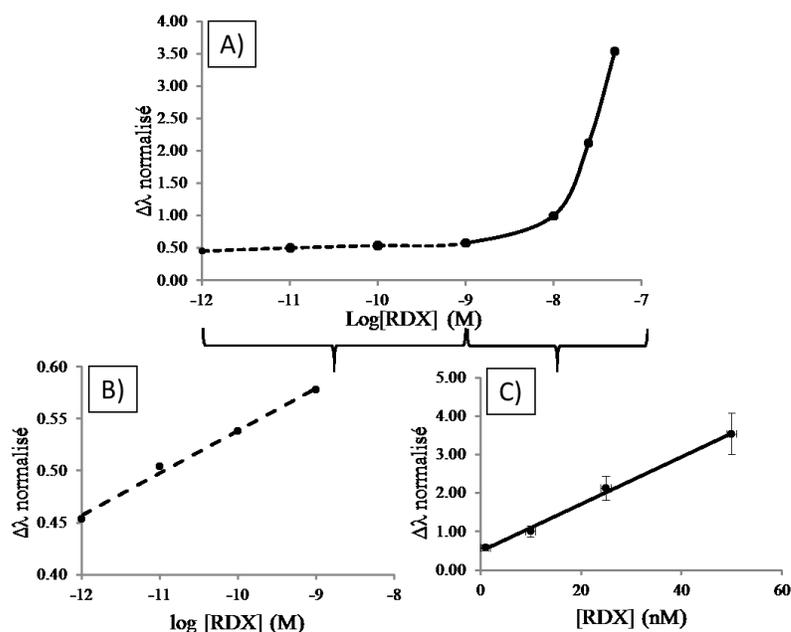


Figure 19. A) Courbe d'étalonnage normalisée sur $[\text{RDX}] = 10 \text{ nM}$ séparée en deux régimes B) de 1 pM à 1 nM ayant comme droite $y = 0.0409x + 0.9477$ ($R^2 = 0.9933$) et C) de 1 nM à 50 nM ayant comme droite $y = 0.0616x + 0.4835$ ($R^2 = 0.996$)

Deux gammes dynamiques à haute sensibilité ont été observées. Une première gamme couvre les concentrations comprises entre 1 fM et 500 fM, où la réponse suit une isotherme de Langmuir. Le capteur est relativement insensible dans la gamme des picomolaires et est de nouveau très sensible dans la plage de 1 à 50 nM. Le profil dose-réponse est en accord avec un site de liaison double avec une constante de dissociation fM et nM.

Alors que la plage fM est impressionnante, la concentration de RDX dans les puits contaminés devrait être dans les faibles nM, puisque la limite fixée par l'EPA de 2ppb correspond à 9 nM. Par conséquent, l'étalonnage optimal du capteur est réalisé dans la plage des nM et est séparé en deux gammes dynamiques (fig. 19). Enfin, l'utilisation d'une courbe d'étalonnage normalisée permet d'atténuer toute fluctuation potentielle de la réponse absolue de différents lots des capteurs SPR. En effet, le signal de chaque solution étalon est mesuré sur une sonde SPR différente. Une solution de normalisation de 10 nM de RDX est utilisée pour normaliser la réponse des différents capteurs.

2.5 Sommaire du Chapitre 2

En bref, sur un prisme ayant une couche d'or d'environ 50 nm, plusieurs étapes ont été effectuées afin d'obtenir un polymère à empreinte moléculaire (fig. 14). Les lavages ont permis la formation homogène de la monocouche de 4-aminothiophénol (1). La monocouche de 4-aminothiophénol est reliée de façon covalente à la surface d'or. Les nanoparticules d'or fonctionnalisées au mercaptoéthane sulfonate et au 4-aminothiophénol sont polymérisées sur la monocouche et forment une matrice 3D de bis-aniline réticulée en présence des molécules empreintes (2). Ces molécules empreintes, l'acide de Kemp, sont ensuite extraites pour former des cavités spécifiques au RDX (3). Le MIP est ensuite caractérisé et mis en application pour la détection de RDX. Suite à plusieurs optimisations des courbes d'étalonnage, une méthode optimale de traitement de données est acquise pour la bonne gamme de concentration.

Chapitre 3 : Caractérisation de la couche polymérique

La sonde SPR modifiée avec la matrice polymérique à empreintes moléculaires a été soumise à une série de mesures de surface pour la caractérisation du MIP. La caractérisation du polymère requiert une multitude de techniques⁷⁶ afin de mieux comprendre les propriétés et de mieux documenter les caractéristiques physiques du polymère. En effet, une lamelle en verre ITO a été modifiée avec le MIP suivant la même procédure que pour le capteur SPR et a été soumise à l'imagerie en champ sombre en utilisant un Olympus BX43. Cette analyse fournira des informations sur la présence de nanoparticules d'or à la surface, et ainsi une preuve de la polymérisation sur la sonde. Les images SEM, acquises avec un microscope à balayage électronique JEOL 7400F disponible à l'Université de Montréal, serviront à observer et comprendre les aspects physiques du polymère à la surface du prisme SPR et plus en détail, l'AFM (Witec) permettra d'estimer l'épaisseur de la couche polymérique.

3.1 Microscope à balayage électronique (SEM)

Un microscope à balayage électronique est un microscope produisant, à basse accélération de voltage, des images à haute résolution spatiale sur un échantillon conducteur en balayant sa surface avec un faisceau d'électrons. Comme montré à la figure 20, un voltage (1) est appliqué à une cathode à émission de champ (2) et à une électrode d'extraction (3) afin d'émettre les électrons de la cathode. Les électrons (4) sont alors accélérés entre l'électrode et une anode à potentiel électrique de masse (5). Le faisceau d'électrons ainsi accéléré est post-acceléré au travers du tube d'accélération (6) de façon à interpénétrer la lentille de focalisation (7). Le faisceau d'électrons primaire post-acceléré est ensuite décéléré par le champ électrique (8) provenant du voltage négatif appliqué à l'échantillon et ensuite atteint la surface de l'échantillon (9). Ainsi, la surface de l'échantillon est balayée avec le déflecteur de balayage supérieur (10) et inférieur (11) par le faisceau d'électrons condensés. Les déflecteurs de balayage ajustent la direction de déflexion et l'intensité afin que le faisceau d'électrons passe toujours au centre de l'objectif. L'échantillon génère des électrons secondaires qui sont accélérés par le champ électrique entre l'échantillon et l'objectif. Les électrons secondaires (12) sont extraits par le champ électrique dans la direction de l'électrode d'extraction (13).⁷⁷

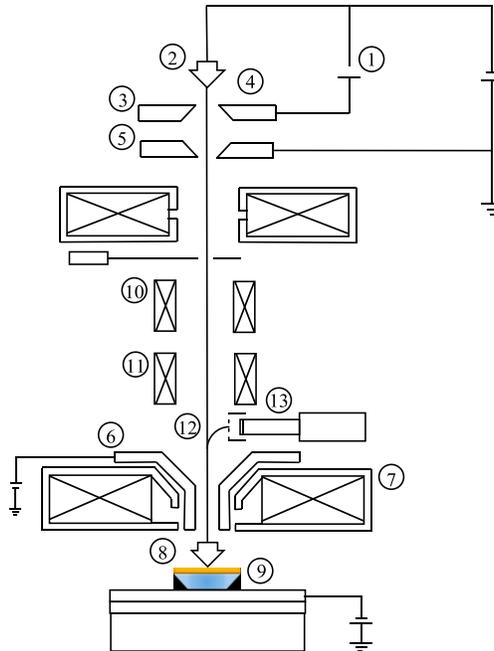


Figure 20. Schématisation d'un microscope à balayage électronique (SEM)

Ainsi, pour un échantillon conducteur comme la sonde SPR modifiée avec le MIP à AuNPs, il est possible d'en tirer des images SEM déterminant l'aspect physique de la membrane polymérique. L'image SEM de la matrice électropolymérisée, sur laquelle une mince couche d'au a été pulvérisée pendant 5 sec, révèle une structure poreuse recouvrant la surface du prisme exposé à la solution de polymérisation montré dans les deux images du bas de la Figure 21. L'image SEM montrée à la Figure 21 en haut à gauche représente la limite entre la surface électropolymérisée (à gauche) et la surface d'or fonctionnalisée (à droite). La surface électropolymérisée possède le polymère en surface et est donc moins conducteur que la surface d'or nue, provoquant une région plus sombre où le MIP est présent. Contrairement, l'image de droite représentant le MIP sur une surface d'or de micro-trous, démontre des agglomérations de nanoparticules non-uniformes, observées par une plus haute intensité lumineuse. Les plaques micro-trous possèdent une plus faible conductivité, causant probablement, lors de l'électropolymérisation, une adsorption physique des nanoparticules à la surface, plutôt qu'une polymérisation du polymère.

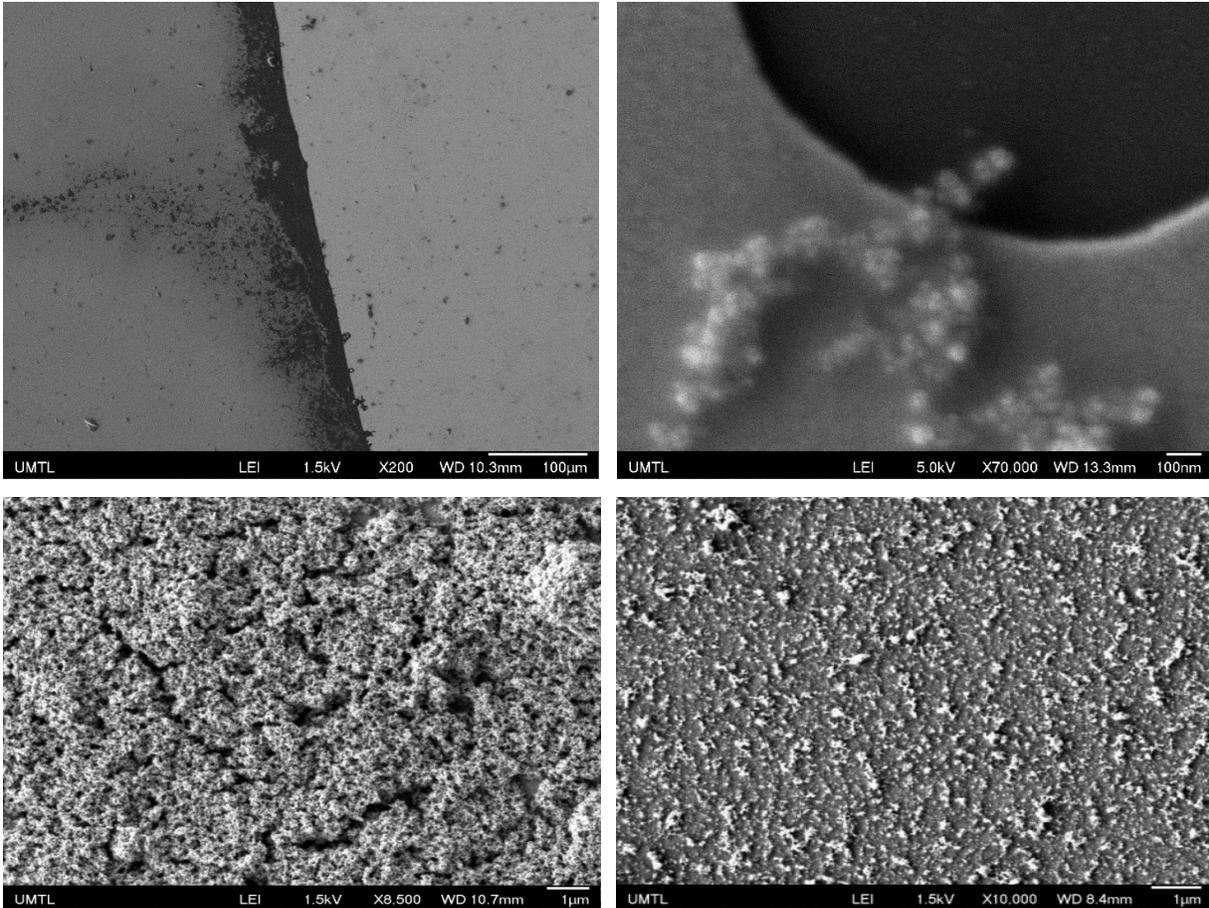


Figure 21. Images SEM de la limite entre la partie électropolymérisée et non électropolymérisée (gauche haut), des nanoparticules agglomérées sur une surface des nanotrous (droite haut) et de différentes zones sur le capteur SPR électropolymérisé (droite et gauche en bas)

3.2 Microscopie à champ sombre - Darkfield

Le système optique du microscope à champ sombre permet la convergence de la lumière à angle oblique sur l'échantillon de façon à obtenir une image avec un contraste et un signal sur bruit nettement améliorés. Le condenseur du microscope à champ sombre forme un cône de lumière focalisé à l'échantillon. Seulement la lumière, qui est diffusée à l'extérieur du cône par l'échantillon, peut se rendre à l'objectif et ainsi à l'observateur.⁷⁸ La lumière diffusée par l'échantillon est collectée et forme une image avec une bonne intensité lumineuse sur un fond noir. L'analyse de la signature spectrale de la lumière diffusée donne des informa-

tions sur la nature de l'élément analysé. En effet, Ag et Au possède une signature spectrale très distincte qui est représentative de l'élément et qui permet son identification.^{79, 80} Les images optiques ainsi que les images et données hyperspectrales ont été captées au moyen d'un microscope optique de recherche (Olympus BX43) équipé d'un système d'illumination à champ sombre avec analyse hyperspectrale intégrée (CytoViva) des laboratoires de Kevin J. Wilkinson à l'Université de Montréal. Une caméra Andor iXon3 a été utilisée afin d'acquérir des images qui étaient 512 par 512 pixels. Des données spatiales et spectrales (longueurs d'onde entre 400 nm et 1000 nm) ont été recueillies à 100x, ce qui donne une taille de pixel d'environ 160 nm X 160 nm.

Afin de prouver la présence de AuNPs, le MIP est caractérisé au microscope à champ sombre utilisant une lame à surface ITO sur laquelle le MIP électropolymérisé a été synthétisé (Figure 22). Une banque de spectres (Figure 23 A) représentant les bandes SPR à 620 nm distinctives aux AuNPs légèrement agrégées a été collectée sur 50 pixels sur 3 images différentes pour un total de 150 spectres. Les images démontrent une distinction claire à la jonction entre la surface ITO intact, où seulement quelques nanoparticules sont visibles, et la surface ITO électropolymérisée, où une matrice dense et aléatoire de AuNPs recouvre la surface (Figure 23A). Ces images confirment la présence du MIP et des nanoparticules d'or à la surface de la lamelle de verre.

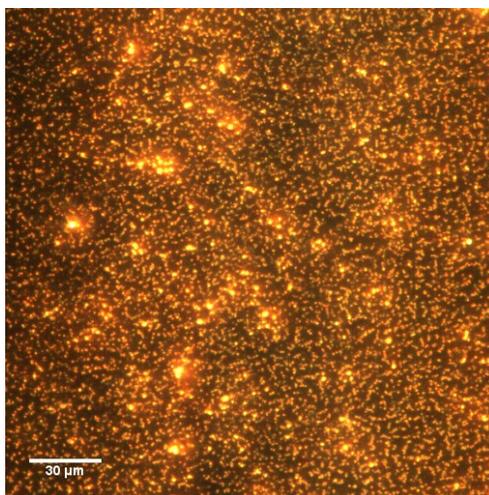


Figure 22. Image de microscopie à champ sombre d'une plaque ITO électropolymérisée

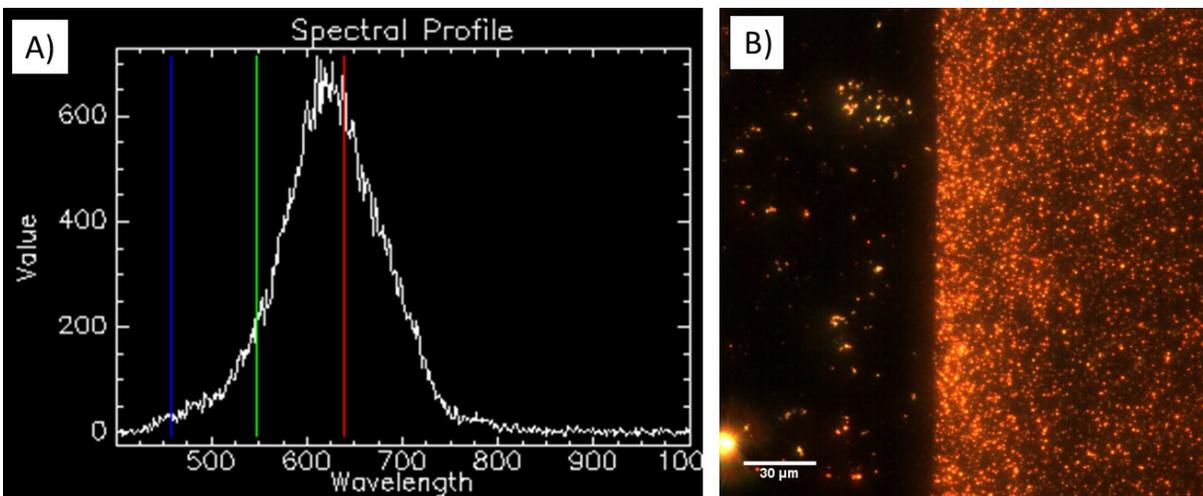


Figure 23. A) Exemple de spectre composant la bibliothèque spectrale de 150 pixels correspondant aux AuNPs répartis sur 3 échantillons de MIP sèche B) Image de microscope à champ sombre de la surface ITO recouvert avec le MIP pour RDX sèche électropolymérisé dans les mêmes conditions que la surface SPR

De plus, il est possible d'évaluer les changements apportés aux nanoparticules puisqu'une augmentation dans la taille des nanoparticules résulte en un déplacement bathochromique de la bande spectrale. La création de la banque spectrale permet le suivi des nanoparticules selon les variations physiques et/ou chimiques apportées à l'échantillon. La banque spectrale composée des bandes des AuNPs de référence est appliquée à une image de microscope à champ sombre d'une lamelle ITO électropolymérisée (Figure 24). 37% des pixels de l'image correspondent à la banque spectrale enregistrée pour les AuNPs du MIP de référence. Pour le même endroit sur la plaque ITO, une image du MIP est collectée suite à l'exposition de la surface à des eaux usées contenant des matières organiques, les paramètres des eaux usées sont détaillés en Annexe Tableau VIII. Lorsque la banque spectrale est appliquée, une diminution d'environ 9% de l'appariement entre les bandes spectrales et les pixels est observée. Cette diminution signifie que la bande spectrale d'environ 9% des AuNPs du MIP a subi un changement de longueur d'onde. De ce fait, les composantes des eaux usées affectent faiblement l'intégrité du polymère.

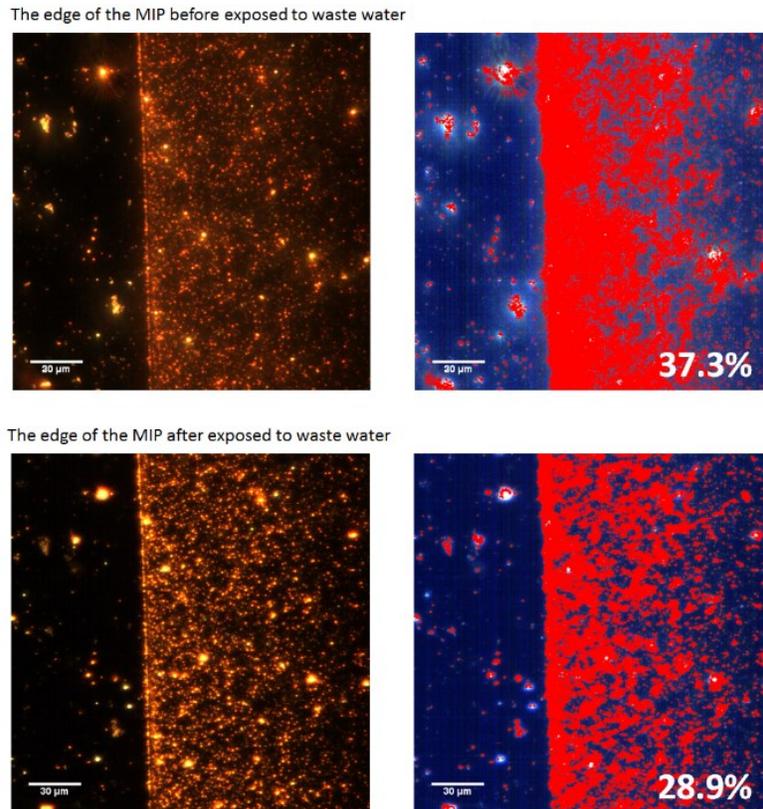


Figure 24. Images de la délimitation entre le polymère et la plaque ITO avant et après l'exposition aux eaux usées, ainsi que leur pourcentage concordant à la bibliothèque spectrale de nanoparticules d'or.

3.3 Microscopie à force Atomique – AFM

La microscopie à force atomique permet de générer une carte topographique de la surface à l'échelle atomique en suivant la déflexion verticale du levier AFM. Ainsi, la pointe AFM placée sur le levier flexible interagit avec la surface soit par attraction ou par répulsion, causant le déplacement vertical du levier AFM. Il est donc possible d'étudier l'épaisseur du film polymérique par AFM, à l'aide du système Witec disponible dans les laboratoires du professeur Masson. Les nanodisques couverts d'un film d'Or ont été fabriqués par photolithographie, par Maxime Couture étudiant Ph.D. du groupe de recherche Masson, afin d'obtenir une bonne reproductibilité de la structure et d'y mesurer l'épaisseur du MIP. La préparation des structures de nanodisques est détaillée dans un article soumis à ACS Applied Materials & Interfaces. Ainsi, des images AFM des nanostructures sans MIP sont acquises comme référence. Ensuite, des images AFM ont été acquises pour la surface nanostructurée électropolymérisée

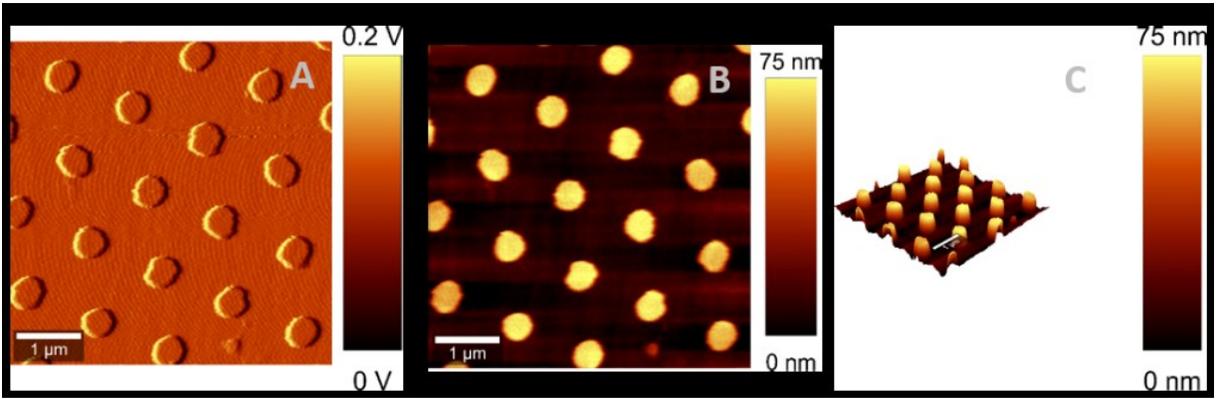


Figure 25. Images AFM de nanodisques sans MIP A) T-B B) Topographie C) Topographie représentation 3-D

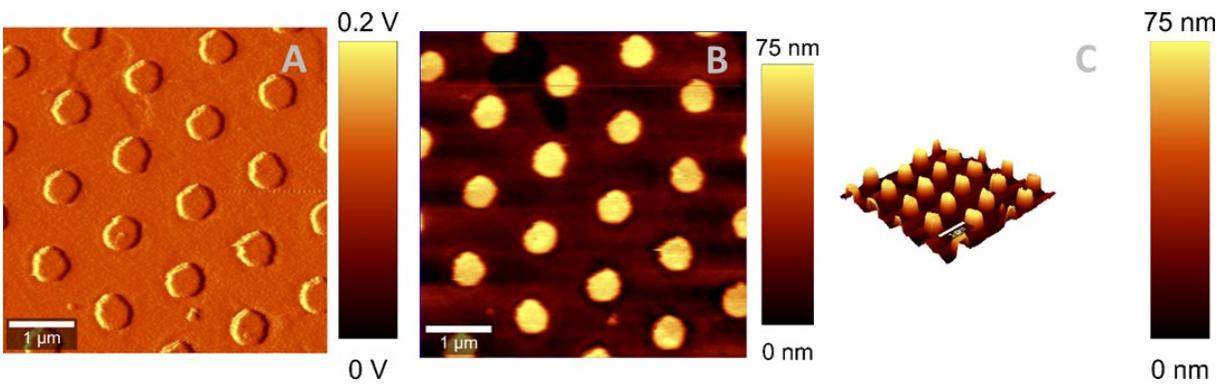


Figure 26. Images AFM de nanodisques avec MIP A) T-B B) Topographie C) Topographie représentation 3-D

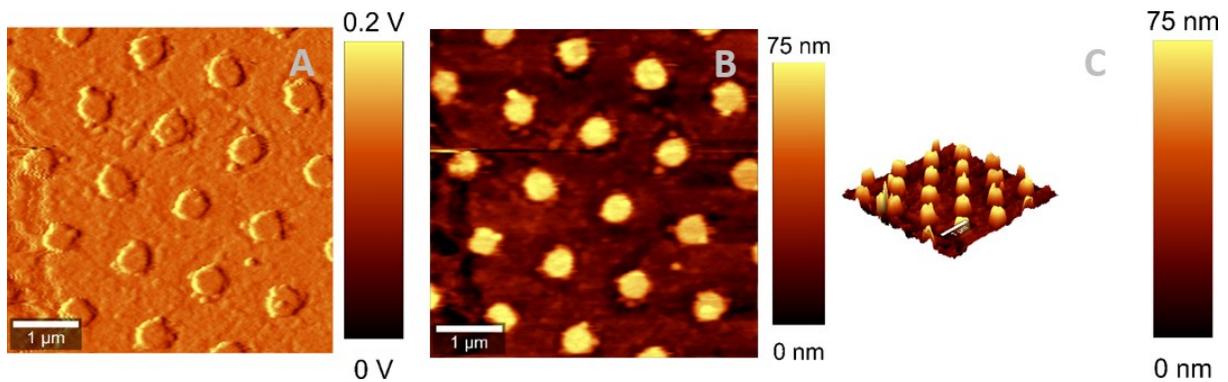


Figure 27. Images AFM de nanodisques avec MIP exposé au RDX A) T-B B) Topographie C) Topographie représentation 3-D

et plus tard, pour la surface nanostructurée électropolymérisée et exposée à une solution de 10 nM de RDX. Il est possible de voir plusieurs variations entre les différentes images AFM, en particulier la rugosité entre le MIP et le MIP après exposition au RDX. De plus, l'analyse des coupes transversales des images AFM fournit des informations sur la hauteur des nanodisques

sur les différentes matrices, fournissant ainsi une estimation semi-quantitative de l'épaisseur du polymère à la surface (Figure 28). La sortie T-B est la différence dans les signaux électriques recueillis à partir des moitiés supérieure et inférieure de la photo diode. Cette sortie est utilisée pour surveiller les retours lors des mesures en mode contact et est utilisé pour les mesures d'adhésion. La topographie est la représentation sur le plan des variations de hauteur et de position des détails de la surface, permettant d'estimer l'épaisseur du MIP.

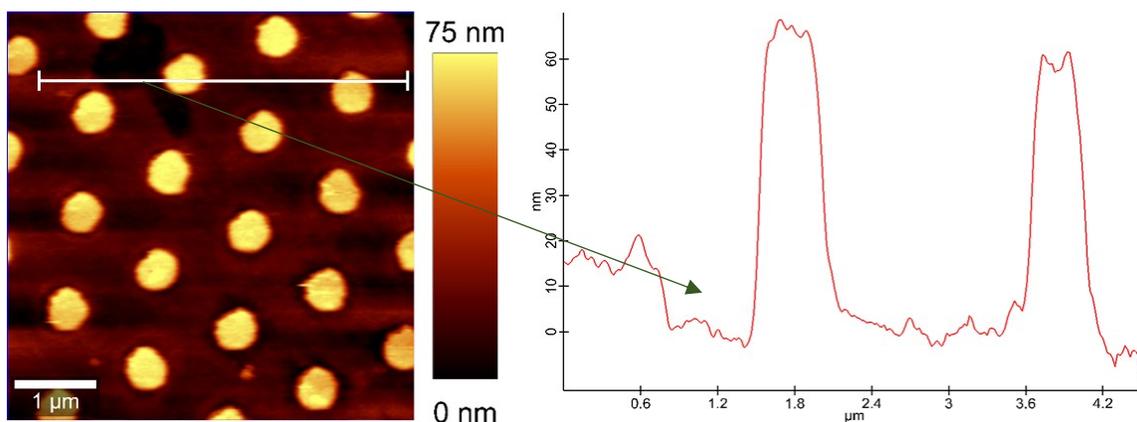


Figure 28. Coupe transversale de l'image topographique en AFM des nanodisques avec MIP sec non exposé au RDX. Gauche) Image AFM de la zone de la coupe transversale et Droite) la hauteur des nanodisques et du MIP selon la coupe transversale.

En effet, lorsque la mesure de la hauteur des nanodisques de la structure électropoly-mérisée est soustraite à la hauteur réelle des nanodisques de 75 nm, il est possible d'estimer l'épaisseur du polymère à la surface. L'analyse des coupes transversales de 72 nanodisques répartis sur 6 images AFM, a suggéré une hauteur du MIP d'environ 16 ± 1 nm avant l'exposition au RDX et une hauteur significativement plus grande de 22 ± 2 nm après une exposition à 10 nM de RDX (Figure 29). Ces résultats sont en accord avec plusieurs autres coupes transversales démontrant un trou dans le MIP, tel qu'observé à la figure 28 où se trouve la région sombre à la gauche du premier nanodisque.

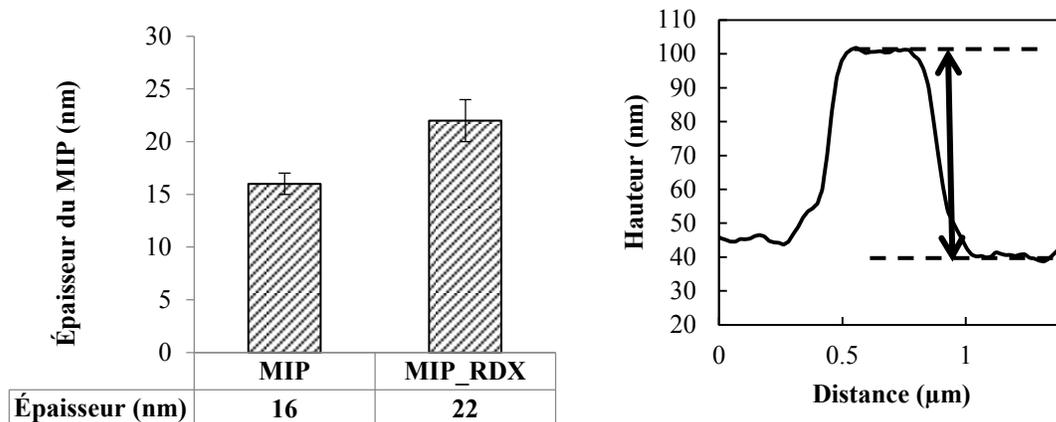


Figure 29. Estimation de l'épaisseur du MIP à partir de la différence de hauteur du nanodisque d'au après électropolymérisation

3.4 Résonance des plasmon de Surface

Tel que mentionné au chapitre 1, la SPR permet la mesure de l'indice de réfraction à la surface de la sonde munie d'une mince couche d'or. Ainsi, il est possible d'observer toutes les interactions qui se produisent dans les quelques nanomètres à l'interface métal/solution. Il est aussi possible d'obtenir plusieurs informations concernant les liaisons et l'adsorption de composés à la surface. Grâce à cette technique, la sensibilité et la sélectivité du capteur sont étudiées. Tout d'abord, la sensibilité de l'analyse est comparée pour la surface d'or nue, la

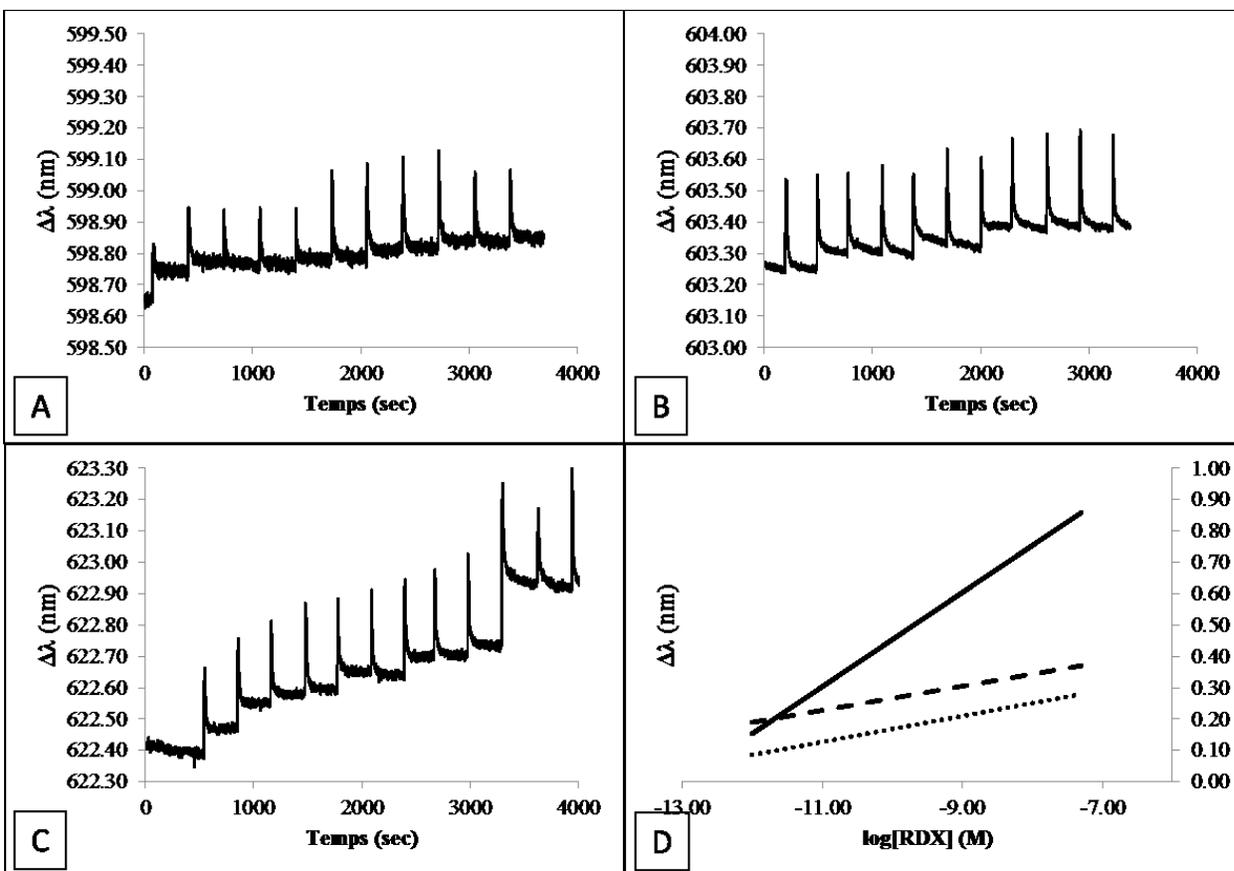


Figure 30. Courbe d'étalonnage des concentrations de RDX de 1 pM, 5 pM, 10 pM, 50 pM, 100 pM, 500 pM, 1 nM, 5 nM, 10 nM, 50 nM et H₂O sur A) un substrat d'or nu, B) une monocouche de 4-AMTP et C) le MIP de AuNPs en temps réel par injection à la seringue. D) Les courbes d'étalonnages pour les diverses concentrations sur l'or nu (---), la monocouche de 4-AMTP (···) et le MIP de AuNPs (—).

monocouche de 4-aminothiophénol et le MIP. Puis, la sélectivité est vérifiée en injectant différentes solutions de TNT et en analysant la réponse du capteur spécifique au RDX. De plus, la matrice polymérique est soumise à différentes températures d'analytes afin de déterminer l'influence de la température de l'eau sur le MIP.

Dans le même ordre d'idée, à la Figure 30, il est possible d'observer que le signal de départ, correspondant à l'eau désionisée, est différent pour les 3 substrats, soit de 598.65 nm pour la surface d'or nue (A), 603.26 nm pour la surface d'or recouverte d'une monocouche de 4-AMTP (B) et 622.41 nm pour la surface d'or recouverte du MIP de AuNPs (C). Ce déplacement bathochromique de longueur d'onde d'absorption démontre une augmentation de la

masse à la surface de la sonde selon l'étape de formation du polymère. Ceci peut indiquer la présence de la matrice polymérique à la surface.

De plus, en comparant les trois mesures SPR avec l'or nu, le 4-AMTP et le MIP, pour le même nombre et le même temps d'injection de mêmes concentrations de RDX, la différence de longueur d'onde en présence du MIP est quatre fois supérieure à la différence de longueur d'onde des deux autres substrats. C'est-à-dire, qu'entre le début et la fin de l'acquisition, le signal SPR a atteint 0.4 nm pour la plus haute concentration de RDX, tandis que seulement 0.1 nm de différence de longueur d'onde ont été atteints pour les signaux SPR de la surface d'or et la monocouche de 4-AMTP. Les pentes illustrées à la figure 30D démontrent bien le gain de sensibilité acquis avec le polymère imprégné pour le RDX.

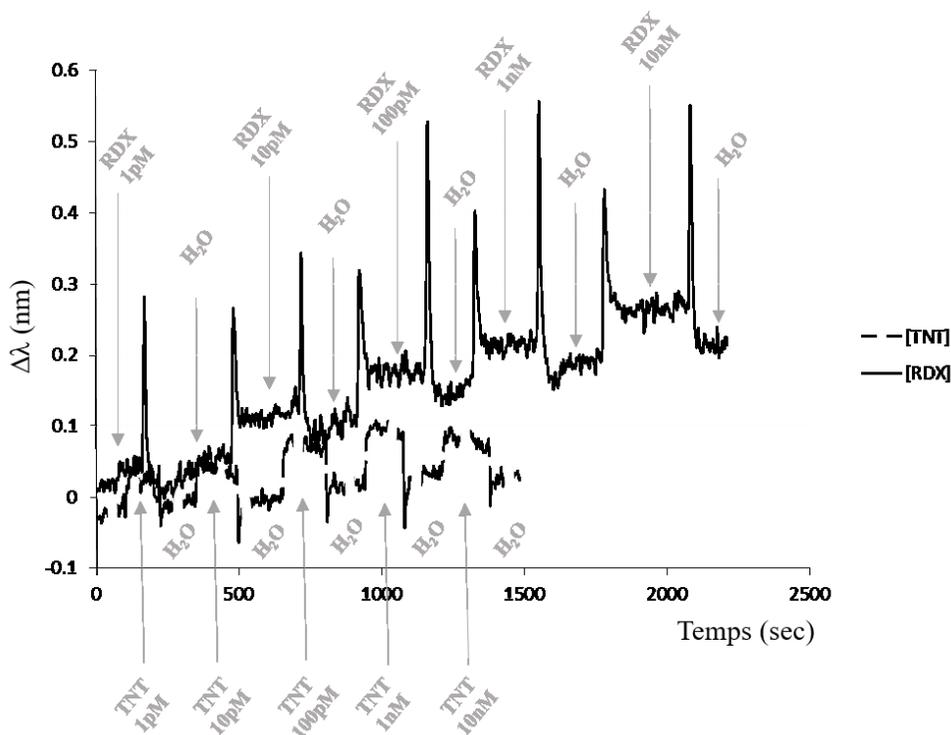


Figure 31. Sensorgramme de la réponse SPR pour une surface électropolymérisée pour le RDX soumise à différentes concentrations entre 1 pM et 10 nM de (--) TNT et de (—) RDX.

Afin de valider la sélectivité du polymère imprégné, un MIP synthétisé pour être sélectif au RDX a été soumis à différentes concentrations de TNT, un autre matériau énergétique courant que l'on retrouve dans les eaux près des bases militaires. En effet, le TNT, qui est un matériau

énergétique qui peut être retrouvé sur les bases militaires, ne produit pas de réponse SPR significative à forte concentration (Fig. 31). Par conséquent, la sélectivité de la sonde SPR est adaptée aux campagnes sur le terrain.

Sachant que lors des campagnes d'échantillonnage sur le terrain, les variations des conditions environnementales peuvent être significatives et soudaines, l'instrument SPR portable a d'abord été validé en laboratoire. Effectivement, connu pour sa sensibilité à la température¹⁶, le dispositif SPR est alors calibré pour le RDX en laboratoire pour différentes températures. L'appareil SPR est à température ambiante lors des mesures tandis que les échantillons pour la courbe d'étalonnage sont stabilisés à différentes températures (2°C, 20°C et 36°C). La réponse SPR de l'eau désionisée est soustraite aux différentes concentrations de RDX dans l'eau naturelle à la même température. La sensibilité et les réponses SPR pour les trois températures sont indiquées au tableau I. La réponse du capteur est plus grande à une température plus basse d'un facteur de près de 5 pour une concentration de 1 pM de RDX et d'un facteur de 2,5 à 10 nM de RDX. La sensibilité a également été comparée pour la gamme de concentration de 1 pM à 10 nM en utilisant à nouveau une normalisation du signal avec la réponse pour 10 nM de RDX. La sensibilité normalisée est environ deux fois plus basse à 2°C qu'à 36°C, ce qui indique que l'étalonnage doit être ajusté pour différentes températures si un calibrage sur plusieurs ordres de grandeur est utilisé. Ainsi, l'analyse est optimale à basse température, puisque que le signal est plus élevé.

Tableau I. Influence de la température sur la sensibilité et la réponse SPR du RDX dans l'eau naturelle

Températures (°C)	Sensibilité (pente de la droite normalisée sur 10 nM RDX)	$\Delta\lambda$ pour 1 pM (nm)	$\Delta\lambda$ pour 10 nM (nm)
2	0.06 ± 0.01	1.7 ± 0.1	2.5 ± 0.9
20	0.087 ± 0.004	1.1 ± 0.2	1.9 ± 0.4
36	0.13 ± 0.02	0.4 ± 0.2	1.0 ± 0.2

3.5 Sommaire du Chapitre 3

Tout bien considéré, la caractérisation de la couche polymérique a permis la confirmation de la présence du polymère en surface, et apporte certaines informations sur les aspects physiques et chimiques. En effet, l'imagerie SEM confirme la présence d'une structure po-

reuse, mais la résolution n'est pas suffisante pour détecter les nanoparticules. Ainsi, la présence des nanoparticules et du MIP est validée avec la microscopie à champ sombre en plus d'ajouter des informations sur l'homogénéité de la couche polymérique. Les données topographiques des images AFM permettent de quantifier l'épaisseur du polymère à approximativement une dizaine de nanomètres. Les analyses effectuées à l'aide de la résonance des plasmon de surface démontrent que l'ajout du polymère imprégné à la surface augmente la sensibilité et la sélectivité du capteur SPR. De plus, l'analyse à basse température est optimale au niveau de la sensibilité, et concorde avec les températures généralement retrouvées dans les eaux naturelles sous-terraines. Maintenant que le capteur est validé, il sera mis en application au chapitre 4 lors de la détection de RDX en eaux naturelles, au laboratoire et sur le terrain.

Chapitre 4 : Détection de RDX dans l'eau naturelle par résonance des plasmons de surfaces

Ce chapitre est dédié à l'analyse en temps réel de la quantité de RDX dans l'eau naturelle par spectroscopie de résonance des plasmons de surface. La SPR permet de suivre l'évolution de la concentration de RDX dans les eaux naturelles par la mesure du changement d'indice de réfraction grâce à la chimie de surface du capteur plasmonique. Ainsi, le capteur a d'abord été testé en laboratoire afin de vérifier son bon fonctionnement général, sa sensibilité et sa sélectivité selon les différents sols, temps d'analyse, températures, pH, etc. Une fois l'étape de quantification en laboratoire établie, l'instrument SPR portable a été utilisé sur le terrain d'une base militaire canadienne, afin de mieux comprendre les enjeux de l'analyse extérieure ayant pour but d'établir une méthode d'analyse du RDX dans les eaux souterraines.

4.1 Détection en laboratoire

Afin de permettre les campagnes sur le terrain efficaces, l'instrument portable et le capteur SPR ont d'abord été validés en laboratoire. Suite à la caractérisation, la vérification de la sélectivité et de la sensibilité du MIP, le système doit aussi être validé à savoir si la méthode permet de quantifier de façon rigoureuse le RDX dans les eaux naturelles. En effet, plusieurs analyses SPR ont été effectuées par Natalia Bukar avec un échantillon de RDX de concentration inconnue afin de valider la méthode de quantification.

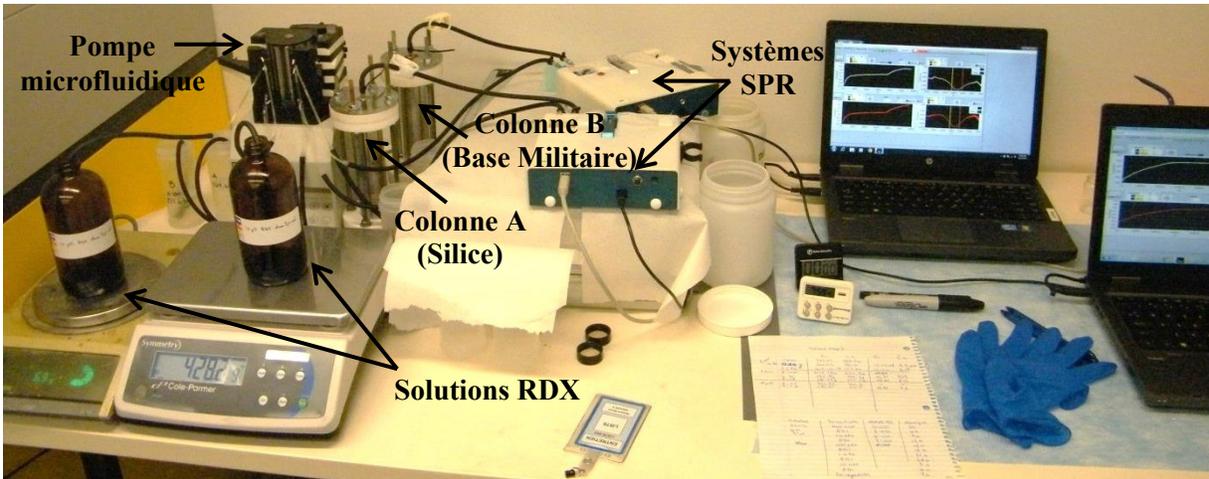


Figure 32. Montage de colonnes de sables A) de silice utilisée comme référence et B) recueilli sur la base militaire canadienne pour la détection en continu de RDX avec le P4-SPR portable

De plus, le capteur a également été testé pour une surveillance en continu, utilisant des conditions environnementales recréées en laboratoire à l'aide de colonne de sable échantillonné sur le site de prélèvement. Deux systèmes SPR ont été utilisés en parallèle afin d'avoir une référence où les échantillons percolent dans la colonne de sable de silice et où les échantillons passent au travers une colonne de sable recueilli sur le terrain. Le débit utilisé très lent correspond à la vitesse d'écoulement généralement retrouvée dans les sols. Le contrôle du volume injecté a été mesuré par pesée. Les mesures se sont étalées sur une durée de 3 jours, ainsi, la concentration en RDX de l'effluent pourrait être surveillée en continu pendant au moins 3 jours. Suivant la validation en laboratoire, le système SPR a été déployé sur le terrain afin de développer une méthode d'échantillonnage et de quantification directement sur les lieux.

4.2 Détection lors de campagnes sur le terrain

L'instrument portable SPR a été déployé sur le champ de tirs d'une base militaire canadienne afin d'effectuer des mesures sur le site en temps réel. Trois campagnes d'échantillonnages ont été organisées ayant pour objectif d'évaluer les enjeux de la détection sur le terrain, entre autres, la détermination du matériel utile, l'installation d'une procédure de travail, le transport, la robustesse de l'équipement face aux variations environnementales et au transport, le temps d'installation et d'analyse, etc. Chaque campagne menée a permis de re-

cueillir des échantillons d'eau naturelle de puits contaminés et non contaminés, afin de tester l'effet des diverses variations chimiques environnementales sur la matrice polymérique de la sonde SPR en laboratoire et sur le terrain.

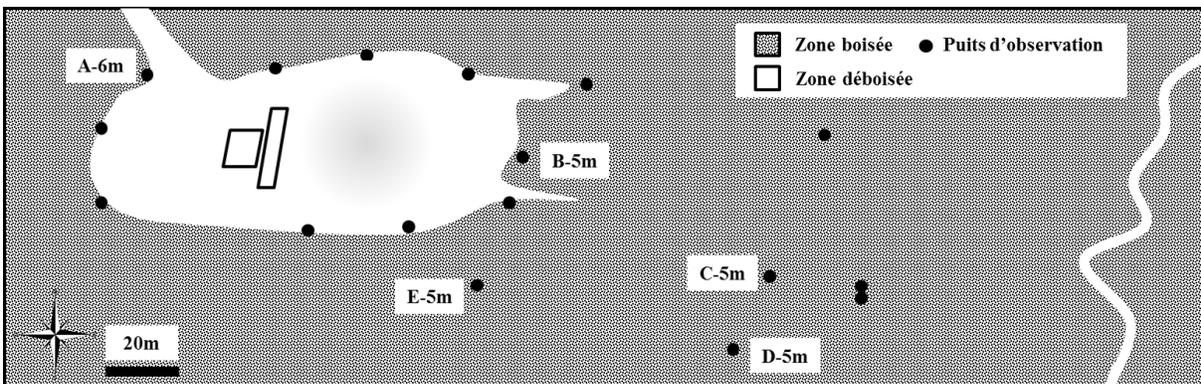


Figure 33. Schéma du champ de tir de l'armée Canadienne utilisé pour le lancement de grenades à fragmentation.

Le site d'échantillonnage en observation est un site d'entraînement de grenades à fragmentation. Le site est utilisé pour le lancement de grenades depuis les années 50. Le flot hydraulique souterrain s'écoule du Nord-Ouest au Sud-Est à partir de l'aire d'entraînement jusqu'à la rivière situé environ à 200m au Sud-Est. La topographie du terrain est relativement plate. Le sol possède un sable de couleur brun pâle sur la zone déboisée, à l'exception de l'aire d'impact de grenades où le sable possède une couleur de brun foncé à noir. Le sol de la partie boisée est couvert de matières organiques.³

4.2.1 Campagne juin 2015

4.2.1.1 Procédures et résultats

La première campagne d'échantillonnage de juin 2015 s'est déroulée lors d'une journée avec des conditions météorologiques moyennes de 23°C, partiellement ensoleillée avec une moyenne de 77% d'humidité.^{81, 82} Pour un rapport des données climatiques de la campagne d'échantillonnage, voir l'annexe I. Le laboratoire a été installé dans une remorque fournie par l'INRS de Québec, incluant des tables et des chaises. Deux appareils SPR ont été requis pour faire les analyses en parallèle et maximiser le temps d'accès au site. Chaque injection de solution dans l'appareil s'est fait manuellement avec une seringue. Le puits d'eau non

contaminée A-6m en amont du champ de tir a été échantillonné, permettant la préparation de la courbe d'étalonnage en tenant compte des facteurs environnementaux propres aux échantillons. Par la suite, le puits B-5m, le plus près de la zone de tir, a été échantillonné. La détection s'est effectuée suivant la séquence : Eau désionisée, A-6m, B-5m, A-6m. La mesure consiste à la différence entre le signal de l'eau non contaminée provenant du puits A-6m et le signal de l'eau contaminée provenant du puits B-5m rincé avec l'eau non contaminée (fig. 34). Le rinçage permet la discrimination du signal provenant de la différente matrice entre les deux puits, causé par les variables environnementales telles que les sols et sédiments différents, la topographie, la géologie, les processus biologiques dus à la faune et la flore avoisinante, etc.

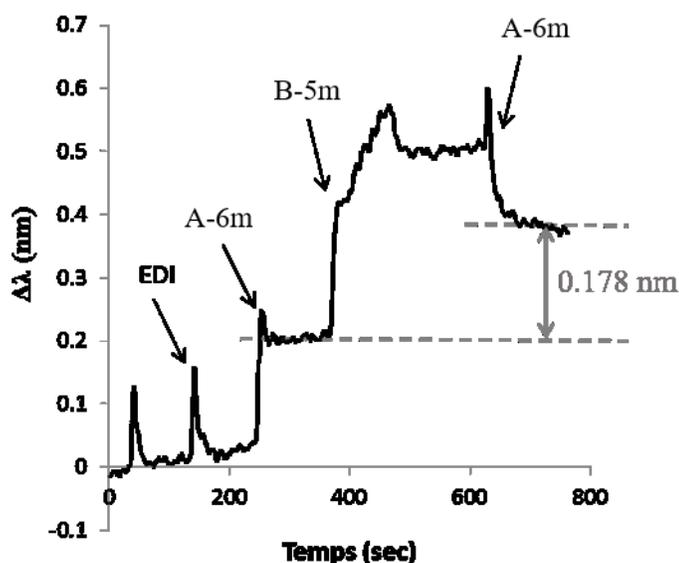


Figure 34. Signal SPR correspondant aux injections SPR de l'eau désionisée (EDI), l'eau non contaminée (A-6m) et de l'eau contaminée avec bisulfite (B-5m) sur un prisme SPR avec film d'or électropolymérisé pour la détection de RDX

La réalisation de la courbe d'étalonnage et la détection de l'eau contaminée ont été effectués avec deux prismes SPR différents. Aucune solution standard n'a été utilisée. Il y a ajout de bisulfite pour tous les échantillons d'eau contaminée recueillis pour les analyses de laboratoire, agissant comme agent de conservation. En notant la différence entre le signal de la matrice exposée à l'eau contaminée et le signal de référence de l'eau non contaminée, une

différence de 0.178 nm est observée, donnant une concentration en RDX de 2.60 nM. La concentration reportée est sous-estimée en comparaison avec les résultats tirés selon la méthode HPLC-UV et SPE-HPLC-UV EPA 8330B de l'INRS à Québec. La valeur calculée par la méthode EPA 8330B est de 8 ppb équivalant à 38.88 nM et donc supérieure à la valeur obtenue par SPR avec la matrice électropolymérisée.



Figure 35. Photographies des mesures environnementales sur le terrain avec le système SPR portable lors de la campagne d'échantillonnage 1

4.2.1.2 Problèmes et améliorations

Cette première campagne a permis de comprendre les enjeux de l'échantillonnage sur le terrain. Entre autres, la limitation de temps, dû à la non accessibilité à l'électricité, aux déplacements sur le terrain et à la limitation du matériel de laboratoire. Le système SPR se nourrit de l'énergie de l'ordinateur portable et malheureusement, la durée des batteries des ordinateurs a été problématique. De plus, la variation du signal SPR entre les analyses en laboratoire et sur le terrain est grande suite à l'ajout de bisulfite, dû au changement de pH entre les échantillons. La calibration à ce stade était mal adaptée, sous-estimant la concentration de RDX dans l'eau naturelle, en comparaison avec la méthode EPA 8330B.

4.2.2 Campagne avril 2016



Figure 36. Photographies des mesures environnementales sur le terrain avec le système SPR portable lors de la campagne d'échantillonnage avril 2016

4.2.2.1 Procédures et résultats

La deuxième campagne d'échantillonnage s'est déroulée sur deux jours du mois d'avril 2016. Les conditions météorologiques lors des mesures sur le terrain étaient variables pour les deux jours d'échantillonnage. Le 11 avril 2016, la température moyenne était de 0.8°C , précipitation solide sur 24 heures de 12.3 mm avec une moyenne de 87% d'humidité⁸² et une bonne accumulation de neige au sol, tandis que le 12 avril 2016, la température moyenne de 6.6°C avec précipitation liquide de 14.7 mm en 24 heures et une moyenne de 79% d'humidité avec la fonte de la neige accumulée la journée précédente.⁸¹ L'importance de bien protéger les instruments de laboratoire contre l'eau et la neige a été notée tout au long de la campagne d'échantillonnage.

Le protocole a été optimisé pour le second échantillonnage. Une solution standard de RDX 10 nM a été ajoutée à la séquence lors de la détection. Il n'y a eu aucun ajout de bisulfite

dans les échantillons d'eau, et ainsi le pH est resté inchangé. L'utilisation de deux génératrices a permis une plus grande durée des manœuvres. Les injections se sont faite en continu avec une pompe péristaltique pour une durée de 10 min à 1 mL/min. Deux différents types de mesures ont été effectués pour la détection du RDX dans l'eau naturelle contaminée; la première consistait à l'injection en continu à partir d'un échantillon stagnant préalablement prélevé (fig. 37), tandis que la seconde méthode consistait à l'injection en continu de l'échantillon dynamique directement dans le puits (fig. 38).

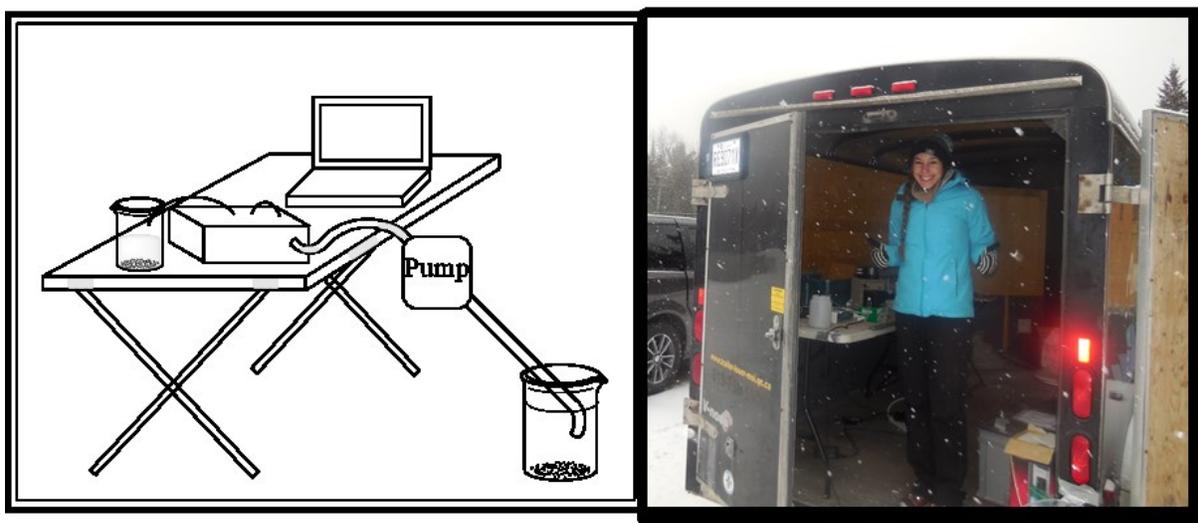


Figure 37. Méthode d'échantillonnage 1 : Détection de RDX en continu sur des échantillons stagnants

En utilisant ces deux méthodes simultanément, l'objectif était de déterminer si les variations environnementales dans le puits influençaient les analyses. Par conséquent, lors des mesures en continu sur un échantillon dynamique, l'instrumentation SPR a été apportée directement au lieu du puits échantillonné, et ainsi, les déplacements entre les puits se sont effectués à l'aide d'un traineau afin de transporter tout le matériel de laboratoire. La première méthode de détection avec un échantillon stagnant a été effectuée dans la remorque et le système SPR n'a pas été déplacé.

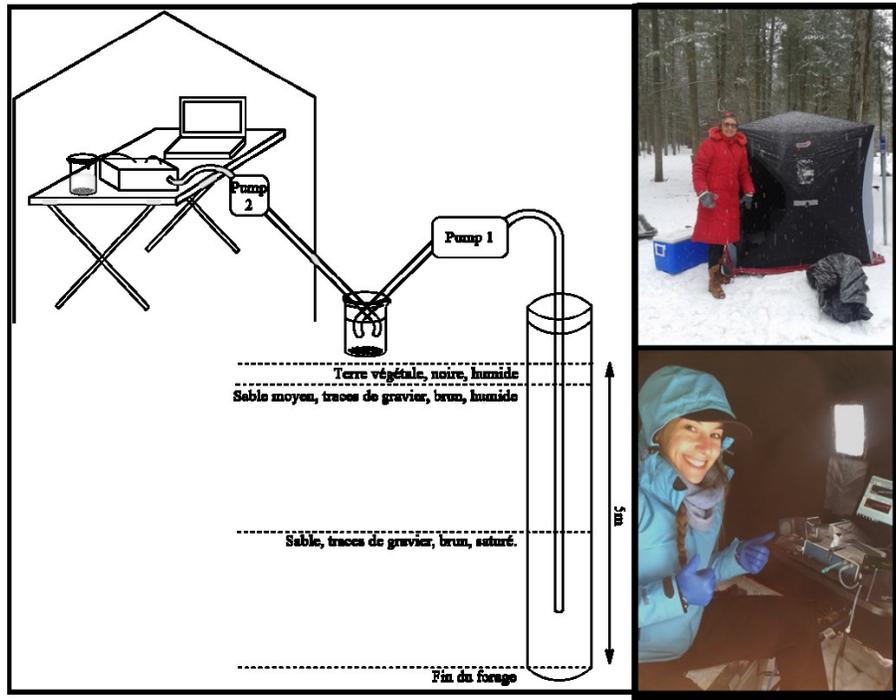


Figure 38. Méthode d'échantillonnage 2 : Détection de RDX en continu sur des échantillons dynamiques

La courbe d'étalonnage a été produite sur le terrain et les différents puits ont été échantillonnés : A-6m (eau non-contaminée), B-5m, C-5m, D-5m et E-5m. La séquence d'analyse s'est effectuée comme suit : stabilisation à l'eau désionisée, puis l'injection de l'eau naturelle non-contaminée A-6m, suivit de l'eau naturelle contaminée provenant des différents puits, pour finir avec la solution standard de RDX 10 nM et un rinçage à l'eau désionisée. Le signal obtenu pour le puits A-6m reste constant, l'eau non contaminée ne donne donc aucune réponse SPR pour l'étape NW (natural water) de la figure 39. Le puits B-5m est le plus près du site de détonation et possède le signal CNW (contaminated natural water) le plus élevé, tandis que le puits C-5m, le plus loin échantillonné en aval du champ de tir, démontre un signal plus faible pour CNW. Ces résultats concordent bien avec les ratios de concentration prévus pour ces trois puits selon la géologie et l'écoulement des eaux sous-terraines du Nord-Ouest au Sud-Est. En effet, le puits A-6m ne devrait pas être contaminé, puisqu'il se situe en amont du site de tir. Le puits B-5m est le plus contaminé, puisqu'il est le plus près en aval du site de détonation des grenades et le puits C-5m est le moins contaminé dû à la diffusion du RDX transporté dans les eaux souterraines. Par contre, les résultats des concentrations de RDX mesurées par la

méthode EPA 8330B ne sont pas consistants et ainsi, les résultats SPR n'ont pu être comparés (voir tableau II en annexe pour les résultats de la méthode EPA 8330B). Selon les informations obtenues, les analyses en HPLC ont été faites par un analyste inexpérimenté sur un instrument n'ayant pas fonctionné depuis un certain temps.

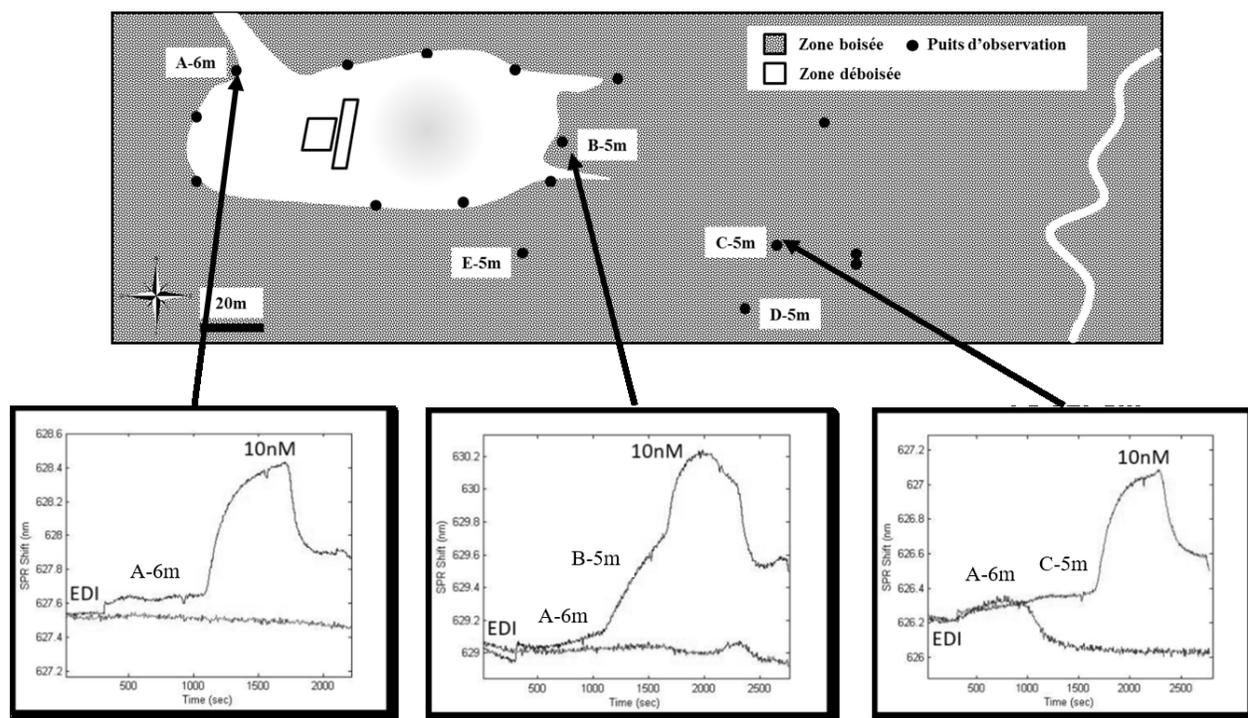


Figure 39. Signal SPR pour la détection du RDX dans les puits A-6m, B-5m et C-5m autour du champ de tir avec la méthode à échantillons dynamiques

La courbe d'étalonnage et les signaux obtenus pour les différents puits sont normalisés à 10 nM de RDX. Les résultats obtenus par SPR démontrent des valeurs semblables pour la méthode à échantillons dynamiques et à échantillons stagnants, les résultats de comparaison de données sont en annexe xii détaillés dans le tableau III. Pour le puits B-5m, la moyenne des mesures dynamiques et stagnantes effectuées sur le terrain propose une concentration en RDX de 1.8 ± 0.5 nM, ainsi que 0.03 ± 0.06 nM pour le puits C-5m.

4.2.2.2 Problèmes et améliorations

À la suite de cette seconde campagne d'échantillonnage, il est possible de confirmer que l'instrument SPR est stable et fonctionne bien sur le terrain malgré les variations environnementales. Les données peuvent être recueillies sur une durée de 45 min par puits. Par contre

à ce stade-ci, le traitement de données doit être optimisé, puisqu'une sous-estimation des résultats comparés aux valeurs réelles est encore présente. Les données sont semblables pour les échantillons stagnants et les échantillons dynamiques selon le test t de student. Par contre il y a une différence d'un ordre de grandeur pour les échantillons du puits C-5m, respectivement de 0.01 ± 0.02 ppb et 0.0011 ± 0.0009 ppb, expliquée par l'incertitude du résultat stagnant. D'un autre côté, l'acquisition en continu directement à partir du puits est possible.

4.2.3 Campagne septembre 2016

4.2.3.1 Procédures et résultats

La troisième et dernière campagne d'échantillonnage s'est déroulée sur deux jours du mois de septembre 2016. Les conditions météorologiques lors des mesures sur le terrain étaient semblables pour les deux jours d'échantillonnage. Le 06 septembre 2016, la température moyenne était de 27°C , ensoleillé avec une moyenne de 53% d'humidité, tandis que le 07 septembre 2016, la température moyenne de 29°C avec ensoleillement partiel et une moyenne de 64% d'humidité.⁸¹



Figure 40. Photographies des mesures environnementales sur le terrain avec le système SPR portable lors de la campagne d'échantillonnage 3

Afin d'accéder plus facilement au site d'échantillonnage et aux différents puits, le laboratoire est installé dans la valise d'un Jeep. Il est donc facile de déplacer tout l'équipement aux différents puits échantillonnés : A-6m, B-5m, D-5m et E-5m. Les deux méthodes d'échantillonnage avec l'eau naturelle stagnante et dynamique sont mises en œuvre. Le laboratoire pour la méthode d'échantillons stagnants est installé dans la remorque située dans l'aire du champ de tir pour toute la campagne, tandis que le laboratoire pour la méthode à échantillon dynamique est installé dans le Jeep et se déplace sur le site aux lieux d'échantillonnage. Une solution standard de 10 nM de RDX est utilisée pour recalibrer les capteurs sur le terrain. La séquence de détection est comme suit : Eau désionisée, eau naturelle non contaminée du puits A-6m, solution standard de RDX 10 nM, l'eau naturelle contaminée des puits en aval du champ de tir, rinçage avec l'eau naturelle non contaminée du puits A-6m et rinçage à l'eau désionisée. Aucune solution de bisulfite n'est ajoutée aux échantillons prélevés.

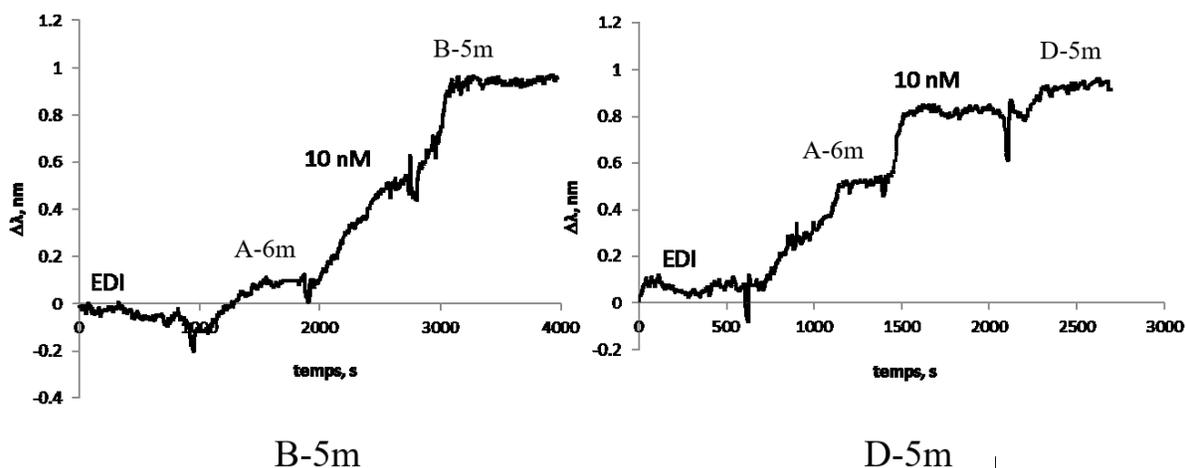


Figure 41. Signal SPR pour la détection du RDX dans les puits B-5m et D-5m autour du champ de tir de l'armée canadienne avec la méthode à échantillons dynamiques

La Figure 41 démontre les résultats SPR obtenus sur le terrain. Il est possible d'acquérir un signal SPR pour l'eau contaminée en 45 minutes in-situ. Ainsi, ayant une solution standard de 10 nM de RDX, il est possible de déterminer seulement avec ces deux résultats bruts que les concentrations de RDX des puits B-5m et D-5m sont plus élevées que 10 nM et que la concentration du puits le plus près du champ de tirs, B-5m, est plus haute que celle du puits D-5m. Dû à la haute température extérieure lors de l'échantillonnage, le changement

de température entre les puits souterrains et les tubes, en plus de la pompe mécanique, mène à la formation de gaz dans la microfluidique, nuisant aux mesures à la surface de la puce SPR, ce qui causait des variations dans le signal SPR des graphiques de la Figure 41.

Une fois les résultats traités avec une courbe d'étalonnage optimale effectuée en laboratoire (voir la section 2.4.2 Développement de la courbe d'étalonnage), les concentrations de RDX mesurées sur le terrain concordent avec les résultats obtenus par la méthode EPA8330B, ainsi que les résultats reportés en laboratoire (les résultats de laboratoire sont obtenus par Natalia Bukar).

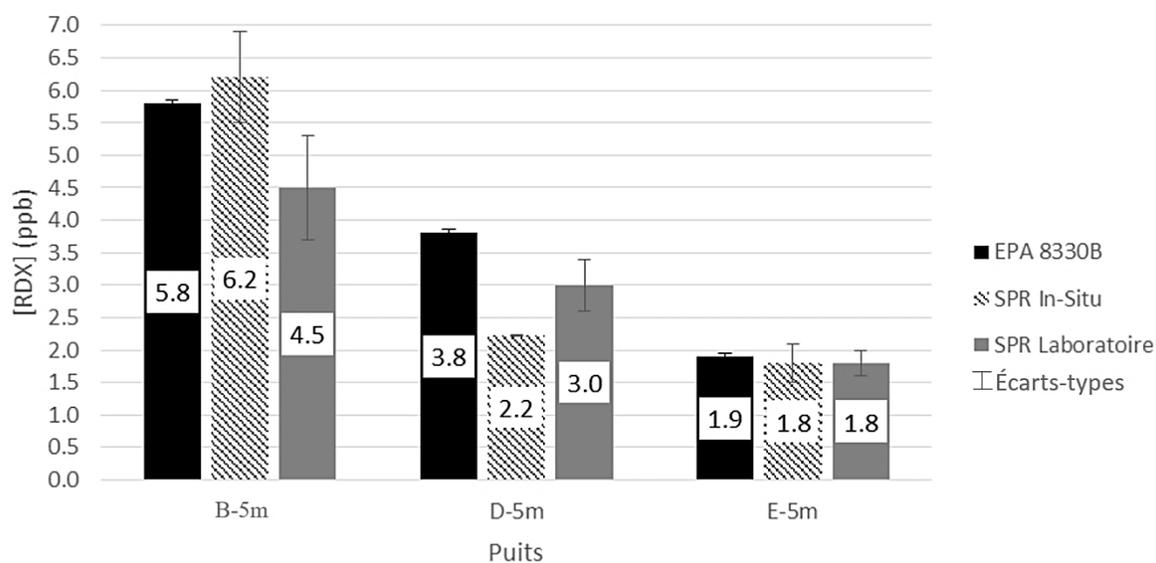


Figure 42. Étude comparative des données acquises dans différents puits, B-5m, D-5m et E-5m, pour les concentrations de RDX dans l'eau naturelle utilisant trois méthodes; EPA 8330B (HPLC-UV/SPE-HPLC-UV), SPR in-situ et SPR en laboratoire.

Les calculs de comparaison de données démontrés en annexe xii Tableau IV, V et VI, prouvent que les résultats obtenus avec le SPR et la méthode EPA 8330B sont semblables. Par exemple, pour le puits E-5m, la spectroscopie SPR sur le terrain et en laboratoire donnent respectivement 1.8 ± 0.3 ppb et 1.8 ± 0.2 ppb tandis que la méthode EPA 8330B mesure 1.9 ± 0.03 ppb de RDX dans l'eau naturelle. Les valeurs de la concentration obtenues sur le terrain (2.2 ± 0.01 ppb) et par la méthode EPA 8330B (3.8 ± 0.03 ppb) ne concordent pas pour le puits D-5m, par contre ces deux dernières concordent avec la valeur obtenue en laboratoire (3.0 ± 0.4

ppb) pour le même échantillon pour un niveau de confiance de 95%. Les résultats des concentrations de RDX des analyses SPR sont en accord avec les analyses HPLC pour les puits B-5m et E-5m avec une meilleure exactitude de 1.6 ppb sur terrain et en laboratoire. La reproductibilité des mesures SPR était meilleure que 20% sur le terrain et en laboratoire. Ainsi, la méthode SPR en accord avec la méthode EPA 8330B possèdent plus d'avantages en étant déployée sur le terrain, en étant plus rapide et en offrant la possibilité d'un suivi en continu.

4.2.3.2 Problèmes et amélioration

Il est important de bien protéger les instruments de laboratoire du soleil tout au long de la campagne d'échantillonnage afin d'éviter la dégradation des analytes et la formation de bulles de gaz dans les tubes. L'injection de la solution standard de RDX avant la mesure permet d'avoir une influence constante sur l'inconnue en plus de ne pas influencer le signal de référence. Les résultats concordent avec les valeurs obtenues par la méthode EPA 8330B, ainsi qu'avec l'écoulement des eaux souterraines.

4.3 Sommaire du Chapitre 4

En effectuant la sommation des analyses réalisées en laboratoire et sur le terrain, plusieurs informations sur l'effet des diverses conditions environnementales, sur les techniques de terrain, sur la limitation du temps et sur la robustesse de l'équipement s'accumulent et permettent de créer une méthode de quantification du RDX efficace grâce à l'utilisation du P4-SPR portable. Les analyses des échantillons d'eau naturelle effectuées en laboratoire et sur le terrain par spectroscopie SPR ainsi que les analyses effectuées selon la méthode EPA8330B correspondent à des concentrations de RDX semblables avec une meilleure exactitude de 1.6 ppb et une reproductibilité supérieure de 20% sur le terrain et en laboratoire. La méthode SPR possède plusieurs avantages puisqu'elle est portable, en continu et rapide. En effet, le temps d'analyse est grandement diminué lors de l'utilisation de la méthode employée, jusqu'à environ 45 minutes entre l'installation du matériel et l'obtention de données sur la concentration de RDX dans l'eau d'un puits de la garnison. Le système P4-SPR possède donc un bon avenir dans la détection sur le terrain de contaminants dans les eaux naturelles.

Chapitre 5: Conclusions

Sachant que le RDX est utilisé mondialement comme explosif et est résistant à la décomposition biologique, il s'accumule donc dans la biosphère, causant ainsi une source de contamination néfaste. Sans une bonne gestion des résidus de munition, la contamination des sites militaires par les matériaux énergétiques peut causer un impact environnemental important sur les plantes et l'écologie microbienne, et affecte aussi la santé humaine. Afin de minimiser les dommages environnementaux suite à l'utilisation d'explosifs, les travaux réalisés pour ce mémoire ont permis de développer une méthode de détection afin de contrôler de façon régulière la concentration du RDX dans le but qu'elle n'excède pas les normes permises par l'EPA et suivies par notre partenaire.

En effet, une sonde SPR pour le suivi des matériaux énergétiques dans les sources d'eaux naturelles a été caractérisée et validée, offrant l'obtention des résultats en accord avec la méthode normalisée EPA 8330B. Lors de la caractérisation, le microscope à champ sombre a permis de constater la présence de nanoparticules d'or à la surface de la sonde. L'imagerie SEM faite sur les prismes SPR électropolymérisés démontre la présence d'une couche de polymère poreuse et uniforme à la surface. La topographie du MIP observé par AFM donne les informations nécessaires sur l'épaisseur de la couche polymérique, à savoir 16 ± 1 nm pour le MIP non humecté et 22 ± 2 nm pour le MIP non humecté exposé à une solution de RDX de 10 nM.

De plus, sachant que le capteur SPR est assez sensible pour la norme environnementale et assez spécifique concernant les autres contaminants tels que le TNT, testé en laboratoire, le capteur SPR a été déployé sur le terrain d'une base militaire canadienne, afin de faire le suivi de la contamination par RDX des eaux souterraines de plusieurs puits à proximité d'un champ de tir. Un protocole a été établi pour la détection en continu sur le terrain, nécessitant 45 minutes incluant la configuration jusqu'aux résultats de la concentration en RDX pour un puits comparativement à plusieurs jours pour la méthode EPA8330B, diminuant énormément le temps d'obtention de résultats. La réponse mesurée sur le terrain était en excellent accord avec la méthode standard EPA 8330B mesurée indépendamment. L'appareillage SPR portable a fait

ses preuves lors de diverses conditions environnementales, hivernales et estivales, démontrant la robustesse de l'appareil, ce qui motive son utilisation tout au long de l'année.

5.1 Améliorations

D'une part, selon les expériences à différentes températures, on en conclut que la réponse SPR est sensible aux variations de température extérieure, mais aussi à celles des eaux échantillonnées. Idéalement, il serait préférable de stabiliser l'appareil et l'eau souterraine à basse température, afin d'obtenir une bonne sensibilité de l'instrument et d'éviter la formation de bulle dans les conduits. Un exemple d'instrument SPR portable à régulation de la température est décrit dans un article de A. N. Naimushin.¹⁶ Ainsi, la régulation de la température permettrait l'analyse de molécules d'intérêts à des températures ambiantes variables.

Le second problème rencontré était la formation de bulles dans les conduits de la pompe péristaltique menant l'eau naturelle du puits au système SPR. En effet, lorsque la température ambiante est supérieure à la température de l'eau dans le puits, le réchauffement de l'eau dans les tubes mène à la formation de bulles, nuisant aux mesures SPR. Ainsi, une régulation de la température des tubes diminuerait le dégagement gazeux. De plus, l'ajout d'un dégazeur à ultrasons pour le béccher de débordement diminuerait la quantité d'oxygène dans l'eau, diminuant aussi le risque de nuire à la mesure SPR.

5.2 Perspectives

En combinant la sensibilité, la portabilité et la détection en temps réel de la SPR avec la sélectivité et la robustesse des MIPs comme élément de reconnaissance moléculaire, les possibilités de capteur à faible coût sont nombreuses. La portabilité permet d'effectuer la détection de composantes dans les eaux naturelles sur le terrain permettant de s'intéresser à plusieurs problèmes environnementaux. En effet, en modifiant la chimie de surface, il est possible de capter différents analytes d'intérêts. Récemment, quelques expériences ont été effectuées sur l'appareil P4-SPR pour la détection du pétrole brut dans les eaux naturelles sachant que le pétrole possède des effets néfastes sur la faune et la flore incluant les organismes sous la surface de l'eau.⁸³ Ainsi, les résultats sont encourageants pour une gamme de concentration dans les ppm sur une surface d'or fonctionnalisée au polystyrène-SH MW5000. De plus, sachant

que la technologie sur les bases militaires est en constant changement, la composition des explosifs ne repose pas seulement sur le RDX, mais aussi sur plusieurs différentes molécules (TNT, HMX, nitroglycérine, etc..) qui peuvent ainsi être détectées par le P4-SPR en modifiant le MIP pour une sélectivité à l'analyte d'intérêt.

D'autre part, il est suggéré de continuer les efforts sur le développement de l'appareil SPR afin de faciliter son utilisation sur le terrain, puisque le système P4-SPR possède un bon avenir dans la détection in-situ de contaminants dans les eaux naturelles.

Chapitre 6: Bibliographie

1. Lima, D. R. S.; Bezerra, M. L. S.; Neves, E. B.; Moreira, F. R., Impact of ammunition and military explosives on human health and the environment. *Reviews on environmental health* **2011**, *26* (2), 101-10.
2. GI Sunahara, G. L., RG Kuperman, J Hawari, *Ecotoxicology of explosives*. CRC Press: United States of America, 2009; p 325.
3. Vallière, A. *Caractérisation environnementale: Construction de défense Canada*; Biogénie, division d'EnGlobe Corp.: 2012.
4. Pantea, D.; Brochu, S.; Thiboutot, S.; Ampleman, G.; Scholz, G., A morphological investigation of soot produced by the detonation of munitions. *Chemosphere* **2006**, *65* (5), 821-831.
5. Pennington, J. C.; Brannon, J. M., Environmental fate of explosives. *Thermochim. Acta* **2002**, *384* (1-2), 163-172.
6. Ariyaratna, T.; Vlahos, P.; Tobias, C.; Smith, R., Sorption kinetics of TNT and RDX in anaerobic freshwater and marine sediments: Batch studies. *Environ. Toxicol. Chem.* **2016**, *35* (1), 47-55.
7. Hatab, N. A.; Eres, G.; Hatzinger, P. B.; Gu, B. H., Detection and analysis of cyclotrimethylenetrinitramine (RDX) in environmental samples by surface-enhanced Raman spectroscopy. *J. Raman Spectrosc.* **2010**, *41* (10), 1131-1136.
8. Best, E. P. H.; Sprecher, S. L.; Larson, S. L.; Fredrickson, H. L.; Bader, D. F., Environmental behavior of explosives in groundwater from the Milan Army Ammunition Plant in aquatic and wetland plant treatments. Uptake and fate of TNT and RDX in plants. *Chemosphere* **1999**, *39* (12), 2057-2072.
9. Halasz, A.; Groom, C.; Zhou, E.; Paquet, L.; Beaulieu, C.; Deschamps, S.; Corriveau, A.; Thiboutot, S.; Ampleman, G.; Dubois, C.; Hawari, J., Detection of explosives and their degradation products in soil environments. *J. Chromatogr. A* **2002**, *963* (1-2), 411-418.
10. Borch, T.; Gerlach, R., Use of reversed-phase high-performance liquid chromatography-diode array detection for complete separation of 2,4,6-trinitrotoluene metabolites and EPA method 8330 explosives: influence of temperature and an ion-pair reagent. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1022* (1-2), 83-94.
11. Tachon, R.; Pichon, V.; Le Borgne, M. B.; Minet, J. J., Comparison of solid-phase extraction sorbents for sample clean-up in the analysis of organic explosives. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1185* (1), 1-8.
12. Brown, K. E.; Greenfield, M. T.; McGrane, S. D.; Moore, D. S., Advances in explosives analysis-part I: animal, chemical, ion, and mechanical methods. *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, *408* (1), 35-47.
13. Shanmugaraju, S.; Mukherjee, P. S., pi-Electron rich small molecule sensors for the recognition of nitroaromatics. *Chem. Commun.* **2015**, *51* (89), 16014-16032.
14. Dean, J. R., *Environmental Trace Analysis: Techniques and applications*. 1 ed.; John Wiley & Sons, Ltd.: 2013; p 280.
15. Soelberg, S. D.; Chinowsky, T.; Geiss, G.; Spinelli, C. B.; Stevens, R.; Near, S.; Kauffman, P.; Yee, S.; Furlong, C. E., A portable surface plasmon resonance sensor system for real-time monitoring of small to large analytes. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *32* (11-12), 669-674.

16. Naimushin, A. N.; Soelberg, S. D.; Bartholomew, D. U.; Elkind, J. L.; Furlong, C. E., A portable surface plasmon resonance (SPR) sensor system with temperature regulation. *Sens. Actuator B-Chem.* **2003**, *96* (1-2), 253-260.
17. Chinowsky, T. M.; Soelberg, S. D.; Baker, P.; Swanson, N. R.; Kauffman, P.; Mactutis, A.; Grow, M. S.; Atmar, R.; Yee, S. S.; Furlong, C. E., Portable 24-analyte surface plasmon resonance instruments for rapid, versatile biodetection. *Biosens. Bioelectron.* **2007**, *22* (9-10), 2268-2275.
18. Richard B. M. Schasfoort, A. J. T., *Handbook of surface plasmon resonance*. The Royal Society of Chemistry: 2008; Vol. Cambridge, UK, p 402.
19. Couture, M.; Zhao, S. S.; Masson, J. F., Modern surface plasmon resonance for bioanalytics and biophysics. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, *15* (27), 11190-11216.
20. Otto, A., Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by method of frustrated total reflection. *Zeitschrift Fur Physik* **1968**, *216* (4), 398-&.
21. Kretschm.E; Raether, H., Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light. *Zeitschrift Fur Naturforschung Part a-Astrophysik Physik Und Physikalische Chemie* **1968**, *A 23* (12), 2135-&.
22. Kretschm.E, Determination of optical constants of metals by excitation of surface plasmons. *Zeitschrift Fur Physik* **1971**, *241* (4), 313-&.
23. Shankaran, D. R.; Gobi, K. V. A.; Miura, N., Recent advancements in surface plasmon resonance immunosensors for detection of small molecules of biomedical, food and environmental interest. *Sens. Actuator B-Chem.* **2007**, *121* (1), 158-177.
24. Raether, H., *Surface plasmons on smooth and rough surfaces and gratings*. Springer-Verlag: Berlin, 1988.
25. Ekgasit, S.; Thammacharoen, C.; Knoll, W., Surface plasmon resonance spectroscopy based on evanescent field treatment. *Anal. Chem.* **2004**, *76* (3), 561-568.
26. Liz-Marzan, L. M., Tailoring surface plasmons through the morphology and assembly of metal nanoparticles. *Langmuir* **2006**, *22* (1), 32-41.
27. Willets, K. A.; Van Duyne, R. P., Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2007**, *58*, 267-297.
28. Paul L. Stiles, J. A. D., Nilam C. Shah, and Richard P. Van Duyne, Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Anal. Chem.* **2008**, *1*, 601-626.
29. Sepulveda, B.; Angelome, P. C.; Lechuga, L. M.; Liz-Marzan, L. M., LSPR-based nanobiosensors. *Nano Today* **2009**, *4* (3), 244-251.
30. Hall, D., Use of optical biosensors for the study of mechanistically concerted surface adsorption processes. *Anal. Biochem.* **2001**, *288* (2), 109-125.
31. Bolduc, O. R.; Live, L. S.; Masson, J. F., High-resolution surface plasmon resonance sensors based on a dove prism. *Talanta* **2009**, *77* (5), 1680-1687.
32. Zhao, S. S.; Bukar, N.; Toulouse, J. L.; Pelechacz, D.; Robitaille, R.; Pelletier, J. N.; Masson, J. F., Miniature multi-channel SPR instrument for methotrexate monitoring in clinical samples. *Biosens. Bioelectron.* **2015**, *64*, 664-670.
33. Jean-François Masson, J. P., Ludovic Live, Michael Atkin, Philippe Masson Affinité Instruments. <http://affiniteinstruments.com>.
34. Myszyka, D. G., Improving biosensor analysis. *J. Mol. Recognit.* **1999**, *12* (5), 279-284.

35. Du, J.; Liu, X. L.; Liu, W.; Wu, Z. Q.; Chen, H., One-step preparation of vinyl-functionalized material surfaces: a versatile platform for surface modification. *Sci. China-Chem.* **2014**, *57* (4), 654-660.
36. Shankaran, D. R.; Gobi, K. V.; Matsumoto, K.; Imato, T.; Toko, K.; Miura, N., Highly sensitive surface plasmon resonance immunosensor for parts-per-trillion level detection of 2,4,6-trinitrophenol. *Sens. Actuator B-Chem.* **2004**, *100* (3), 450-454.
37. Smith, R. G.; D'Souza, N.; Nicklin, S., A review of biosensors and biologically-inspired systems for explosives detection. *Analyst* **2008**, *133* (5), 571-584.
38. Wang, X. P.; Zhan, S. Y.; Huang, Z. H.; Hong, X. Y., Review: Advances and Applications of Surface Plasmon Resonance Biosensing Instrumentation. *Instrum. Sci. Technol.* **2013**, *41* (6), 574-607.
39. Orellana, G.; Moreno-Bondi, M. C., *Frontiers in Chemical Sensors: Novel Principles and Techniques*. Springer Science & Business Media: New York, 2006; p 372.
40. Eggins, B. R., *Chemical Sensors and Biosensors*. John Wiley & Sons: UK, 2002; p 273.
41. Sellergren, B., *Molecularly Imprinted Polymers: Man-Made Mimics of Antibodies and their Application in Analytical Chemistry*. Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2000; p 582.
42. Yan, M.; Ramström, O., *Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology*. Marcel Dekker: New York, 2004; p 752.
43. Bunka, D. H. J.; Stockley, P. G., Aptamers come of age - at last. *Nat. Rev. Microbiol.* **2006**, *4* (8), 588-596.
44. Holthoff, E. L.; Bright, F. V., Molecularly templated materials in chemical sensing. *Anal. Chim. Acta* **2007**, *594* (2), 147-161.
45. Gupta, V. K.; Yola, M. L.; Eren, T.; Atar, N., Selective QCM sensor based on atrazine imprinted polymer: Its application to wastewater sample. *Sens. Actuator B-Chem.* **2015**, *218*, 215-221.
46. Piletsky, S. A.; Turner, A. P. F., Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers. *Electroanalysis* **2002**, *14* (5), 317-323.
47. Motaharian, A.; Motaharian, F.; Abnous, K.; Hosseini, M. R. M.; Hassanzadeh-Khayyat, M., Molecularly imprinted polymer nanoparticles-based electrochemical sensor for determination of diazinon pesticide in well water and apple fruit samples. *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, *408* (24), 6769-6779.
48. Riskin, M.; Tel-Vered, R.; Willner, I., Imprinted Au-Nanoparticle Composites for the Ultrasensitive Surface Plasmon Resonance Detection of Hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX). *Adv. Mater.* **2010**, *22* (12), 1387-+.
49. Riskin, M.; Tel-Vered, R.; Lioubashevski, O.; Willner, I., Ultrasensitive Surface Plasmon Resonance Detection of Trinitrotoluene by a Bis-aniline-Cross-Linked Au Nanoparticles Composite. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (21), 7368-7378.
50. Breinl, F.; Haurowitz, F., Chemical examinations on the precipitate from haemoglobin and anti-haemoglobin serum and comments on the nature of antibodies. *Z. physiol. Chem.* **1930**, (192), 45-57.
51. Polyakov, M.; Khim, Z., Adsorption properties of silica gel and its structure. *Zh. Fiz. Khim., Ser. B* **1931**, *2* (6), 799-805.
52. Yoshikawa, M.; Tharpa, K.; Dima, S. O., Molecularly Imprinted Membranes: Past, Present, and Future. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (19), 11500-11528.

53. Arshady, R.; Mosbach, K., Synthesis of Substrate-Selective Polymers by Host-Guest Polymerization. *Macromolecular Chemistry and Physics-Makromolekulare Chemie* **1981**, *182* (2), 687-692.
54. Mayes, A. G.; Mosbach, K., Molecularly imprinted polymers: useful materials for analytical chemistry? *Trac-Trends Anal. Chem.* **1997**, *16* (6), 321-332.
55. Henry, O. Y. F.; Cullen, D. C.; Piletsky, S. A., Optical interrogation of molecularly imprinted polymers and development of MIP sensors: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *382* (4), 947-956.
56. Kennedy, B.; Glidle, A.; Cunnane, V. J., A study of the oxidation and polymerisation of meta substituted phenol and aniline derivatives. *J. Electroanal. Chem.* **2007**, *608* (1), 22-30.
57. Hyun, J.; Chilkoti, A., Surface-initiated free radical polymerization of polystyrene micropatterns on a self-assembled monolayer on gold. *Macromolecules* **2001**, *34* (16), 5644-5652.
58. Pushkarsky, M. B.; Dunayevskiy, I. G.; Prasanna, M.; Tsekoun, A. G.; Go, R.; Patel, C. K. N., High-sensitivity detection of TNT. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103* (52), 19630-19634.
59. Tu, R. Y.; Liu, B. H.; Wang, Z. Y.; Gao, D. M.; Wang, F.; Fang, Q. L.; Zhang, Z. P., Amine-capped ZnS-Mn²⁺ nanocrystals for fluorescence detection of trace TNT explosive. *Anal. Chem.* **2008**, *80* (9), 3458-3465.
60. Li, H. H.; Lu, F. T.; Zhang, S. J.; He, G.; Fang, Y., Preparation of monolayer-assembled fluorescent film and its sensing performances to hidden nitroaromatic explosives. *Chin. Sci. Bull.* **2008**, *53* (11), 1644-1650.
61. Zhu, W.; Li, W. N.; Wang, C.; Cui, J. C.; Yang, H. W.; Jiang, Y.; Li, G. T., CB 8 - based rotaxane as a useful platform for sensitive detection and discrimination of explosives. *Chem. Sci.* **2013**, *4* (9), 3583-3590.
62. Sohn, H.; Sailor, M. J.; Magde, D.; Trogler, W. C., Detection of nitroaromatic explosives based on photoluminescent polymers containing metalloles. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (13), 3821-3830.
63. Altstein, M.; Bronshtein, A.; Glattstein, B.; Zeichner, A.; Tamiri, T.; Almog, J., Immunochemical approaches for purification and detection of TNT traces by antibodies entrapped in a sol-gel matrix. *Anal. Chem.* **2001**, *73* (11), 2461-2467.
64. Anderson, G. P.; Moreira, S. C.; Charles, P. T.; Medintz, I. L.; Goldman, E. R.; Zeinali, M.; Taitt, C. R., TNT detection using multiplexed liquid array displacement immunoassays. *Anal. Chem.* **2006**, *78* (7), 2279-2285.
65. Peveler, W. J.; Yazdani, M.; Rotello, V. M., Selectivity and Specificity: Pros and Cons in Sensing. *ACS Sens.* **2016**, *1* (11), 1282-1285.
66. Riskin, M.; Tel-Vered, R.; Bourenko, T.; Granot, E.; Willner, I., Imprinting of molecular recognition sites through electropolymerization of functionalized au nanoparticles: Development of an electrochemical TNT sensor based on pi-donor-acceptor interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (30), 9726-9733.
67. Hrapovic, S.; Majid, E.; Liu, Y.; Male, K.; Luong, J. H. T., Metallic nanoparticle-carbon nanotube composites for electrochemical determination of explosive nitroaromatic compounds. *Anal. Chem.* **2006**, *78* (15), 5504-5512.
68. Tancharoen, C.; Sukjee, W.; Sangma, C.; Wangchareansak, T.; Ieee, Molecularly Imprinted Polymer for Explosive Detection. *2015 First Asian Conference on Defence Technology (Acdt)* **2015**, 171-174.

69. Alizadeh, T.; Zare, M.; Ganjali, M. R.; Norouzi, P.; Tavana, B., A new molecularly imprinted polymer (MIP)-based electrochemical sensor for monitoring 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) in natural waters and soil samples. *Biosens. Bioelectron.* **2010**, *25* (5), 1166-1172.
70. Jing, L. J.; Zhang, Q. W.; Wang, Y.; Liu, X. H.; Wei, T. X., Surface plasmon resonance sensor for theophylline using a water-compatible molecularly imprinted film. *Anal. Methods* **2016**, *8* (11), 2349-2356.
71. Bao, H.; Wei, T. X.; Li, X. L.; Zhao, Z.; Cui, H.; Zhang, P., Detection of TNT by a molecularly imprinted polymer film-based surface plasmon resonance sensor. *Chin. Sci. Bull.* **2012**, *57* (17), 2102-2105.
72. Smith, S. R.; Han, S.; McDonald, A.; Zhe, W.; Shepherd, J. L., An electrochemical approach to fabricate a heterogeneous mixed monolayer on planar polycrystalline Au and its characterization with Lateral Force Microscopy. *J. Electroanal. Chem.* **2012**, *666*, 76-84.
73. Green, N. H.; Allen, S.; Davies, M. C.; Roberts, C. J.; Tendler, S. J. B.; Williams, P. M., Force sensing and mapping by atomic force microscopy. *Trac-Trends Anal. Chem.* **2002**, *21* (1), 64-73.
74. McPeak, K. M.; Jayanti, S. V.; Kress, S. J. P.; Meyer, S.; Iotti, S.; Rossinelli, A.; Norris, D. J., Plasmonic Films Can Easily Be Better: Rules and Recipes. *ACS Photonics* **2015**, *2* (3), 326-333.
75. Martel, R. e. a. *Sampling and characterisation protocol for groundwater, surface water and water contained in the unsaturated zone in the land forces military training areas*; INRS, Centre Eau Terre Environnement: Canada, 2012; p 209.
76. Su, L.; Zhang, S. M.; Jiang, G. Q.; Pang, J. Y.; Wang, D.; Shi, J. Y.; Fang, G. Z., Layer-by-layer self-assembly of a lignin-poly(vinyl alcohol) based polyelectrolyte with a conductivity method. *J. Appl. Polym. Sci.* **2017**, *134* (9), 9.
77. Sakitani, Y.; Todokoro, H.; Fukuhara, S., Low-Voltage scanning electron-microscope. *J. Electron Microsc.* **1979**, *28* (3), 229-229.
78. Hu, M.; Novo, C.; Funston, A.; Wang, H. N.; Staleva, H.; Zou, S. L.; Mulvaney, P.; Xia, Y. N.; Hartland, G. V., Dark-field microscopy studies of single metal nanoparticles: understanding the factors that influence the linewidth of the localized surface plasmon resonance. *J. Mater. Chem.* **2008**, *18* (17), 1949-1960.
79. Kelly, K. L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C., The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107* (3), 668-677.
80. Jensen, T. R.; Malinsky, M. D.; Haynes, C. L.; Van Duyne, R. P., Nanosphere lithography: Tunable localized surface plasmon resonance spectra of silver nanoparticles. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104* (45), 10549-10556.
81. MétéoMédia, Valeurs Observées. In *Calendrier Mensuel*, Québec, 2016.
82. EnvironnementCanada, Humidité Relative. In *Rapport de données horaires*, Gouvernement du Canada: Quebec, 2016.
83. Heintz, R. A.; Rice, S. D.; Wertheimer, A. C.; Bradshaw, R. F.; Thrower, F. P.; Joyce, J. E.; Short, J. W., Delayed effects on growth and marine survival of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* after exposure to crude oil during embryonic development. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.* **2000**, *208*, 205-216.

Annexe I

Méthode EPA 8330B

Tableau II. Table des concentrations de matériaux énergétiques dans les eaux naturelles recueillies lors des trois campagnes d'échantillonnage par la méthode EPA 8330B fait dans les laboratoires de l'INRS à Québec

Informations				Concentrations Calculées																% Récupération estimé
Date d'échantillonnage	Date d'analyse	Analyste	Puits	RDX	TNT	HMX	1,3,5-TNB	1,3-DNB	Nitroglycérine	Nitrobenzène	2-NT	3-NT	4-NT	Tetryl	2-A-4,6-DNT	4-A-2,6-DNT	2,4-DNT	2,6-DNT	1,2-Dinitrobenzène	
				(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)	(µg/L)
09/06/2015	09/07/2015	Richard Lévesque	A-6m	< 0,4	< 0,3	< 0,3	< 0,1	< 0,1	< 0,6	< 0,6	< 1	< 1	< 1	< 0,3	< 0,3	< 0,8	< 0,1	< 0,4	93	
09/06/2015	09/07/2015	Richard Lévesque	B-5m	7.5	< 0,3	> 0,3 (DTC)	< 0,1	< 0,1	< 0,5	< 0,5	< 1	< 1	< 1	< 0,3	< 0,3	< 0,8	< 0,1	< 0,4	89	
09/06/2015	09/07/2015	Richard Lévesque	E9-1-35	125	15.9	35.7	0.8	< 0,1	< 0,6	< 0,6	< 1	< 1	< 1	< 0,3	< 0,3	> 0,9 (DTC)	< 0,1	2.8	94	
12/04/2016	17/06/2016		A-6m	< 0,3	< 0,2	< 0,2	< 0,09	< 0,09	< 0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12/04/2016	17/06/2016		B-5m	7.8	< 0,2	< 0,2	< 0,09	< 0,09	< 0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12/04/2016	17/06/2016		C-5m	10.5	< 0,2	< 0,2	< 0,09	< 0,09	< 0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12/04/2016	17/06/2016		D-5m	11.5	< 0,2	< 0,2	< 0,09	< 0,09	< 0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12/04/2016	17/06/2016		E-5m	7.8	< 0,2	< 0,2	< 0,08	< 0,08	< 0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12/04/2016	17/06/2016		F-5m	9.4	< 0,2	< 0,2	< 0,08	< 0,08	< 0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
06/09/2016	09/09/2016	Richard Lévesque	A-6m	< 0,3	< 0,2	< 0,2	< 0,09	< 0,09	< 0,4	-	< 1	< 1	< 1	-	< 0,2	< 0,7	< 0,1	< 0,3	99.8	
06/09/2016	09/09/2016	Richard Lévesque	B-5m	5.8	< 0,2	1.6	> 0,09 (DTC)	< 0,09	< 0,4	-	< 1	< 1	< 1	-	< 0,2	< 0,6	< 0,1	< 0,3	97.8	
06/09/2016	09/09/2016	Richard Lévesque	D-5m	3.8	< 0,2	> 0,2 (DTC)	< 0,09	< 0,09	< 0,4	-	< 1	< 1	< 1	-	< 0,2	< 0,6	< 0,1	< 0,3	96.8	
06/09/2016	09/09/2016	Richard Lévesque	D-5m dup	3.8	< 0,2	> 0,2 (DTC)	< 0,09	< 0,09	< 0,4	-	< 1	< 1	< 1	-	< 0,2	< 0,6	< 0,1	< 0,3	97.8	
06/09/2016	09/09/2016	Richard Lévesque	E-5m	1.9	< 0,2	< 0,2	< 0,08	< 0,08	< 0,4	-	< 1	< 1	< 1	-	< 0,2	< 0,6	< 0,1	< 0,3	96.4	

Conditions météorologiques sur la base militaire

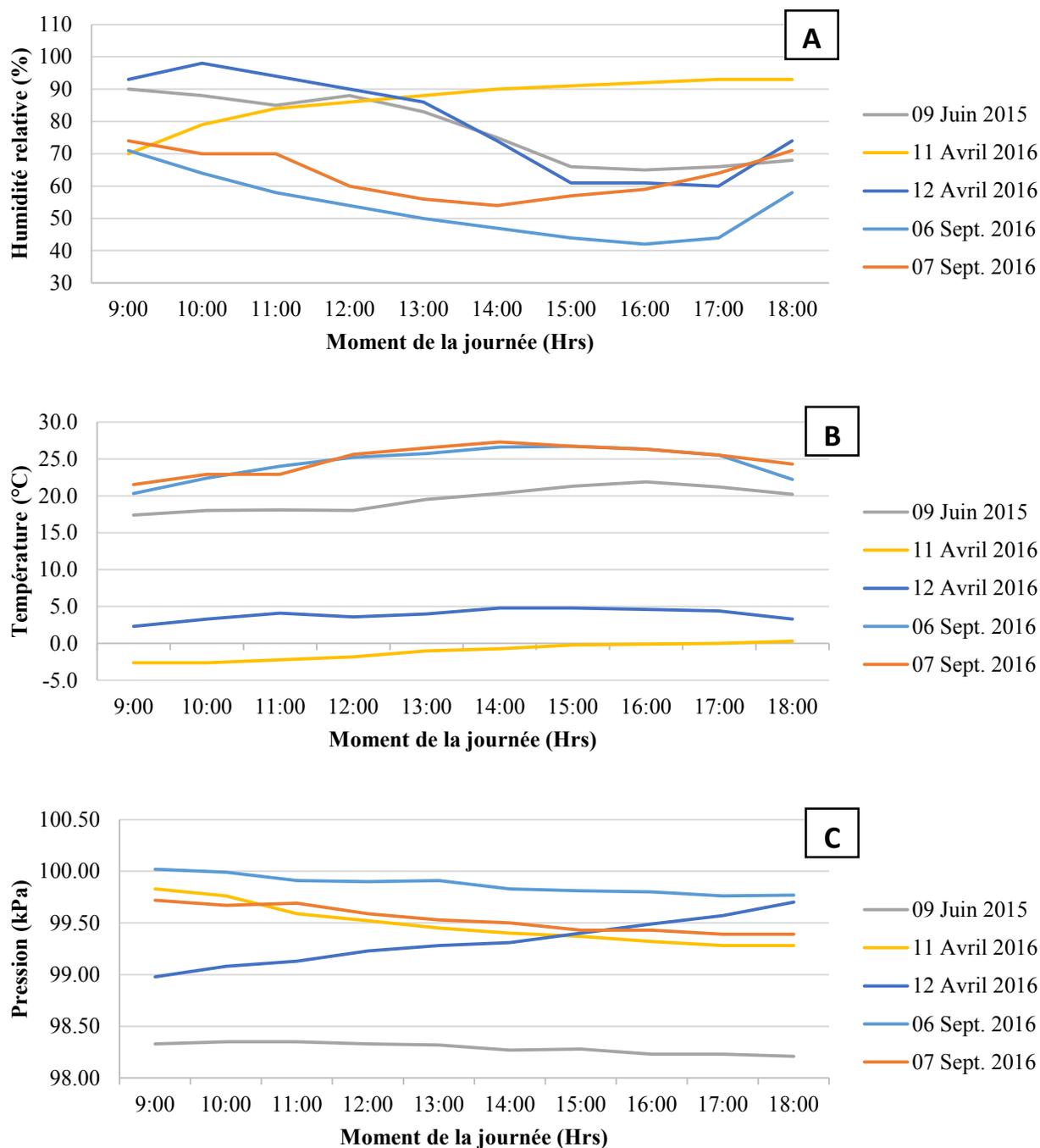


Figure 43. Rapport de données horaire de la base militaire A) l'humidité relative, B) la température et C) la pression, entre 9 :00 et 18 :00 pour les cinq campagnes d'échantillonnage effectuées au champ de tir .

Comparaison de données

Tableau III. Comparaison de données des méthodes In-situ avec échantillons dynamiques et stagnants lors de la campagne d'avril 2016 avec un niveau de confiance de 95%

Puits	Dynamique		Stagnant		F _{expé}	F _{crit}	t _{calculé}	t _{student*}
	[RDX] (ppb)	s (±ppb)	[RDX] (ppb)	s (±ppb)				
C-5m	1.1E-03	9E-04	0.01	0.02	8000	>19	1.2	<4.30
B-5m	0.5	0.1	0.36	0.09	1.95	<19	1.0	<4.30

Tableau IV. Comparaison de données des méthodes In-situ et en laboratoire lors de l'échantillonnage de septembre 2016 avec un niveau de confiance de 95%

Puits	In-Situ		Laboratoire		F _{expé}	F _{crit}	S _{groupé}	t _{calculé}	t _{student*}
	[RDX] (ppb)	s (±ppb)	[RDX] (ppb)	s (±ppb)					
B-5m	6.2	0.7	4.5	0.8	1.31	<19	1.1	2.0	<4.30
D-5m	2.2	0.01	3	0.4	0.00	<19	0.4	2.4	<4.30
E-5m	1.8	0.3	1.8	0.2	0.44	<19	0.4	0.0	<4.30

Tableau V. Comparaison de données des méthodes In-situ et EPA 8330B lors de l'échantillonnage de septembre 2016 avec un niveau de confiance de 95%

Puits	EPA 8330B		In-Situ		F _{expé}	F _{crit}	S _{groupé}	t _{calculé}	t _{student*}
	[RDX] (ppb)	s (±ppb)	[RDX] (ppb)	s (±ppb)					
B-5m	5.8	0.03	6.2	0.7	0.00	<19	0.7	0.8	<4.30
D-5m	3.8	0.03	2.2	0.01	0.11	<19	0.0	74.7	>4.30
E-5m	1.9	0.03	1.8	0.3	0.01	<19	0.3	0.5	<4.30

Tableau VI. Comparaison de données des méthodes EPA 8330B et en laboratoire lors de l'échantillonnage de septembre 2016 avec un niveau de confiance de 95%

Puits	EPA 8330B		Laboratoire		F _{expé}	F _{crit}	S _{groupé}	t _{calculé}	t _{student*}
	[RDX] (ppb)	s (±ppb)	[RDX] (ppb)	s (±ppb)					
B-5m	5.8	0.03	4.5	0.8	0.00	<19	0.8	2.4	<4.30
D-5m	3.8	0.03	3	0.4	0.01	<19	0.4	2.9	<4.30
E-5m	1.9	0.03	1.8	0.2	0.02	<19	0.2	0.7	<4.30

*La valeur de t_{calculé} est plus élevée que la valeur de t_{student} à 95% de niveau de confiance (4.303), les résultats diffèrent appréciablement.

Données HPLC-UV déterminant le temps d'extraction de la molécule empreinte

Tableau VII. Détection d'acide picrique par HPLC-UV pour quatre prismes (091601, 091701, 091702 et 091703) suite à l'extraction dans 5mL d'une solution fraîche d'HEPES 0.1M à pH 7.2

1ere Extraction	Area (MS)	Rétention (min)	Temps d'extraction (hrs)	Date de l'extraction	Date de l'analyse HPLC
091601A	2.45E+06	10.356	23	16-09-2014	23-09-2014
091701A	4.21E+06	10.005	29	18-09-2014	23-09-2014
091702A	3.76E+06	10.467	28	18-09-2014	23-09-2014
091703A	4.43E+06	10.458	27	18-09-2014	23-09-2014
2e Extraction	Area (MS)	Rétention (min)	Temps d'extraction (hrs)	Date de l'extraction	Date de l'analyse HPLC
091601B	3.01E+06	10.593	25	18-09-2014	23-09-2014
091701B	6.85E+05	8.42	46	24-09-2014	30-09-2014
091702B	1.51E+04	8.477	46	24-09-2014	30-09-2014
091703B	1.08E+05	8.533	46	24-09-2014	30-09-2014
3e Extraction	Area (MS)	Rétention (min)	Temps d'extraction (hrs)	Date de l'extraction	Date de l'analyse HPLC
091601C	1.34E+05	8.387	46	24-09-2014	30-09-2014
091701C	1.42E+04	8.387	25	29-09-2014	30-09-2014
091702C	1.14E+04	8.387	25	29-09-2014	30-09-2014
091703C	1.44E+04	8.453	25	29-09-2014	30-09-2014
4e Extraction	Area (MS)	Rétention (min)	Temps d'extraction (hrs)	Date de l'extraction	Date de l'analyse HPLC
091601D	1.83E+04	8.443	25	29-09-2014	30-09-2014

Données sur l'échantillon d'eaux usées utilisé lors de l'exposition aux matières organiques suivi par Darkfield

Tableau VIII. Caractéristiques de l'échantillon de mélange d'eaux usées provenant du réservoir secondaire d'aération du plant de traitement d'eaux usées de La Prairie*

Échantillons d'eau usée	pH	Conductivité (µS/m)	ORP (mV)	DOC (mg/L)	TOC (mg/L)	Solides en suspension (TSS) (mg/L)
Réservoir secondaire d'aération (Mélange d'eaux usées)	7.13 ±0.01	1030 ±2	257 ±1	39.7	2131.5	1823 ±60

*Les analyses des paramètres des eaux usées provenant du plant de traitement d'eaux usées de La Prairie ont été effectuées par le groupe de recherche de Subbasis Ghosbal (Azodi et al., 2016 ES&T, ASAP, présentement en Press)