

Université de Montréal

Développement d'une nouvelle méthode d'analyse multi-résidus par LDTD/APCI-MS/MS pour la quantification de pesticides et de produits pharmaceutiques dans les eaux usées

par

Michel Boisvert

Département de Chimie

Faculté des Arts et des Sciences

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

avril, 2012

©, Michel Boisvert, 2012

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Développement d'une nouvelle méthode d'analyse multi-résidus par LDTD/APCI-MS/MS
pour la quantification de pesticides et de produits pharmaceutiques dans les eaux usées

présenté par :
Michel Boisvert

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Kevin J. Wilkinson, président-rapporteur
Dr. Sébastien Sauvé, directeur de recherche
Dr. Pierre Thibault, membre du jury

Résumé

Une nouvelle méthode d'extraction en phase solide (SPE) couplée à une technique d'analyse ultrarapide a été développée pour la détermination simultanée de neuf contaminants émergents (l'atrazine, le déséthylatrazine, le 17 β -estradiol, l'éthinylestradiol, la noréthindrone, la caféine, la carbamazépine, le diclofénac et le sulfaméthoxazole) provenant de différentes classes thérapeutiques et présents dans les eaux usées. La pré-concentration et la purification des échantillons a été réalisée avec une cartouche SPE en mode mixte (Strata ABW) ayant à la fois des propriétés échangeuses de cations et d'anions suivie d'une analyse par une désorption thermique par diode laser/ionisation chimique à pression atmosphérique couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LDTD-APCI-MS/MS). La LDTD est une nouvelle méthode d'introduction d'échantillon qui réduit le temps total d'analyse à moins de 15 secondes par rapport à plusieurs minutes avec la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem traditionnelle (LC-MS/MS). Plusieurs paramètres SPE ont été évalués dans le but d'optimiser l'efficacité de récupération lors de l'extraction des analytes provenant des eaux usées, tels que la nature de la phase stationnaire, le débit de chargement, le pH d'extraction, le volume et la composition de la solution de lavage et le volume de l'échantillon initial. Cette nouvelle méthode a été appliquée avec succès à de vrais échantillons d'eaux usées provenant d'un réservoir de décantation primaire. Le recouvrement des composés ciblés provenant des eaux usées a été de 78 à 106%, la limite de détection a été de 30 à 122 ng L⁻¹, alors que la limite de quantification a été de 88 à 370 ng L⁻¹. Les courbes d'étalonnage dans les matrices d'eaux usées ont montré une bonne linéarité ($R^2 > 0,991$) pour les analytes cibles ainsi qu'une précision avec un coefficient de variance inférieure à 15%.

Mots-clés : LDTD-APCI-MS/MS, extraction en phase solide en mode mixte, analyse multi-résidus, eaux usées

Abstract

A new solid phase extraction (SPE) method coupled to a high throughput sample analysis technique was developed for the simultaneous determination of nine selected emerging contaminants (atrazine, desethylatrazine, 17 β -estradiol, ethynylestradiol, northindrone, caffeine, carbamazepine, diclofenac and sulfamethoxazole) comprising drugs from different therapeutic classes present in wastewater. Sample pre-concentration and clean-up was performed with a mixed-mode SPE cartridge (Strata ABW) having both cation and anion exchange properties followed by analysis by laser diode thermal desorption/atmospheric pressure chemical ionization coupled to tandem mass spectrometry (LDTD-APCI-MS/MS). The LDTD is a new high-throughput sample introduction method, which reduces total analysis time to less than 15 seconds compared to minutes with traditional liquid-chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Several SPE parameters were evaluated in order to optimize recovery efficiencies when extracting analytes from wastewater, such as the nature of stationary phase, the loading flow rate, the extraction pH, the various volume and composition of the washing solution and the initial sample volume. The method was successfully applied to real wastewater samples from a primary sedimentation tank. Recoveries of target compounds from wastewater ranged from 78 to 106 %, the limit of detection ranged from 30 to 122 ng L⁻¹ while the limit of quantification ranged from 88 to 370 ng L⁻¹. Calibration curves in wastewater matrix showed good linearity ($R^2 > 0.991$), for all target analytes, and precision (intraday and interday) showed a coefficient of variance below 15%.

Keywords : LDTD-APCI-MS/MS, mixed-mode solid phase extraction, multi-residue analysis, wastewater

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations, des sigles et des acronymes.....	x
Remerciements.....	xiii
Chapitre 1. Introduction générale.....	1
1.1. Objectif du projet de maîtrise.....	2
1.2. Structure du mémoire de maîtrise.....	3
1.3. Principales catégories de contaminants émergents retrouvés dans les eaux environnementales.....	4
1.3.1. Produits pharmaceutiques.....	4
1.3.2. Produits de soins personnels.....	5
1.3.3. Produits utilisés en médecine vétérinaire.....	7
1.3.4. Les perturbateurs endocriniens.....	8
1.3.5. Les biocides.....	10
1.4. Contaminants émergents sélectionnés dans le cadre du projet de maîtrise.....	10
Chapitre 2. Principales sources d'introduction dans l'environnement des catégories de contaminants émergents ciblés dans le projet d'étude.....	12
2.1. Produits pharmaceutiques utilisés pour la médication humaine.....	12
2.2. Produits pharmaceutiques utilisés en médecine vétérinaire.....	14
2.3. Les pesticides.....	15
2.4. Les produits de soins personnels.....	16
Chapitre 3. Description des contaminants émergents ciblés pour le projet d'étude.....	17
3.1. Description de l'atrazine et de son métabolite principal, le deséthylatrazine.....	17
3.2. Description du sulfaméthoxazole.....	18
3.3. Description des hormones.....	20
3.3.1. Description du 17 α -éthynylestradiol.....	21
3.3.2. Description de l'estradiol.....	21
3.3.3. Description de la noréthindrone.....	22
3.4. Description du diclofénac.....	22
3.5. Description de la carbamazépine.....	23
3.6. Description de la caféine.....	23
Chapitre 4. Techniques d'extraction, d'enrichissement ou de prétraitement des échantillons aqueux.....	24

4.1. L'extraction en phase solide (SPE): principes et fonctionnement généraux.....	25
4.1.1. La 1 ^{ère} étape : échantillonnage et préparation de l'échantillon d'eau brut	26
4.1.2. La 2 ^e étape : le conditionnement de la cartouche.....	27
4.1.3. La 3 ^e étape : le chargement de la cartouche	27
4.1.4. La 4 ^e étape : le lavage de la cartouche	27
4.1.5. La 5 ^e étape : l'élution de la cartouche	28
4.2. Descriptions des principaux types de matériaux utilisés dans les cartouches SPE...	29
4.2.1. Matériaux à base de silice avec groupement silanols résiduels ou greffés avec des groupements polaires	29
4.2.2. Matériaux à base de silice greffés de chaînes alkyles	29
4.2.3. Matériaux de carbone.....	30
4.2.4. Matériaux à base d'échangeurs d'ions	31
4.2.5. Matériaux à base de polymères	31
4.2.6. Matériaux à base de silice ou de polymère greffé de fonctionnalités au mode de rétention mixte	32
4.3. Modèles de cartouches les plus utilisés dans la littérature pour le développement de méthode multi-résidus utilisant une extraction en phase solide.....	33
4.3.1. Utilisation de cartouches en série.....	35
4.4. Microextraction en phase solide (SPME)	36
4.5. Microextraction sur barreau (SBSE).....	38
Chapitre 5. Instruments d'analyse utilisés couramment dans la littérature pour quantifier les contaminants émergents	40
5.1. Analyse par LC-MS/MS	41
Chapitre 6. Introduction à l'appareil LDTD-APCI couplé à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS).....	44
6.1. Principes de fonctionnement général d'un LDTD-APCI couplé à la spectrométrie de masse [131]	45
6.1.1. Échantillonneur et préparation de l'échantillon	45
6.1.2. Optimisation des paramètres LDTD	47
6.1.3. Désorption thermique par diode laser infrarouge.....	48
6.1.4. Source d'ionisation APCI	50
Chapitre 7. Développement d'une nouvelle méthode d'analyse multi-résidus par LDTD/APCI-MS/MS pour la quantification de pesticides et de produits pharmaceutiques dans les eaux usées.....	54
ABSTRACT	56
INTRODUCTION	578
MATERIALS AND METHODS.....	62
Chemicals, Reagents and Stock Solutions	62

Instrumentation	63
Analytical conditions	63
Samples collection and preparation	66
Solid phase extraction (SPE) procedure.....	67
Extraction Recovery of Samples.....	67
RESULTS AND DISCUSSION	69
Optimization of LDTD-APCI parameters.....	69
Optimization of solid phase extraction (SPE) conditions	72
Method validation and application.....	77
CONCLUSION.....	80
ACKNOWLEDGMENT.....	81
Supporting Information.....	82
Chapitre 8. Conclusion.....	97
Bibliographie.....	100

Liste des tableaux

Table VII-1. Optimized LDTD parameters of each LDTD method.	66
Table VII-2. Method validation parameters including recoveries, sensitivity, linearity range, coefficient of correlation (R ²), the limit of detection (MLD), and the limit of quantification (MLQ).	77
Table VII-3. LDTD/APCI-MS/MS analysis of known amounts of target analytes spiked in wastewater samples including bias values and intraday/interday precision. ...	78
Table VII-4. Mean concentration (mean \pm STD, n = 3) of target compounds in raw wastewater samples and wastewater after the sedimentation treatment.	79
Table S-1. Classification of target compounds and their respective IS for each LDTD method.	83
Table S-2. Optimized MS/MS parameters in SRM mode used for the quantification (SRM #1) and confirmation (SRM #2) of selected compounds in positive (PI) ionization mode.	84
Table S-3. Effect of different solvents deposition on the coefficient of variation (CV) for the analysis of all selected emerging contaminants in positive (PI) ionization mode (n = 5).	85
Table S-4. Qualitative evaluation of MS/MS peak shapes observed at different laser power (%) for the analysis of all selected emerging contaminants.	86
Table S-5. Qualitative evaluation of MS/MS peak shapes observed for different laser ramps (%) and duration (sec.) for the analysis of all selected emerging contaminants.	87
Table S-6. Qualitative evaluation of MS/MS peak shapes observed for different holding time (sec.) of the laser at maximum intensity for the analysis of all selected emerging contaminants.	88
Table S-7. Log P (octanol-water) of target compounds [154].	89
Table S-8. Recoveries under optimized conditions for each cartridge (triplicate analysis).	90
Table S-9. Effect of the pH of the sample on recoveries of target analytes (triplicate analysis).	91
Table S-10. Effect of different mobile phases for the washing step on recoveries of target analytes (triplicate analysis).	92
Table S-11. Effect of different mobile phase volume for the washing step on recoveries of target analytes for triplicate analysis.	93
Table S-12. Effect of the loading flow rate on recoveries of target analytes for triplicate analysis.	94
Table S-13. Effect of the sample volume on recoveries of target analytes for triplicate analysis.	95
Table S-14. Asymmetrical peak shapes observed when the laser power, the laser ramps or holding time of the laser were not optimized.	96

Liste des figures

Figure 1. Structure des contaminants émergents sélectionnés pour le projet de maîtrise....	11
Figure 2. Mécanismes d'ionisation en APCI (+/-).....	51
Figure 3. Ions primaires et secondaires générés lors d'une décharge Corona (APCI) pendant l'ionisation des composés.	52
Figure 7-1. Schematic diagram of the LDTD-APCI assembly.	64
Figure 7-2. Effect of deposition volume on the peak area of target analytes in spiked effluent wastewater (CAF and CBZ use the left y-axis scale; other compounds use the right y-axis scale).....	71
Figure 7-3. Effect of the carrier gas flow rate on the peak area of target analytes (CAF and CBZ use the left y-axis scale; other compounds use the right y-axis scale).....	72
Figure 7-4. Effect of sample pH on ionization of target analytes according to their respective pKa.....	74

Liste des abréviations, des sigles et des acronymes

(H ₂ O) _n H ⁺	Water aggregate / Agglomérat d'eau
ACN	Acetonitrile / Acétonitrile
AHTN	7-acetyl-1,1,3,4,4,6-hexamethyl-1,2,3,4 tetrahydronaphthalene
ANOVA	Analysis of variance / Analyse de la variance
AP	Affinité protonique
APCI	Atmospheric pressure chemical ionization / Ionisation chimique sous pression atmosphérique
Arb	Arbitrary unit / Unités arbitraires
AZT	Atrazine / Atrazine
BP-3	Benzophénone-3
CAF	Caffeine / Caféine
CBZ	Carbamazepine / Carbamazépine
CE	Collision energy / Énergie de collision
COX	Cyclooxygénases
CV	Coefficient de variation
DCF	Diclofenac / Diclofénac
dd-H ₂ O	Purified water / Eau purifiée, déminéralisée et distillée
DEA	Desethylatrazine
DEET	N,N-diethyl-m-toluamide
DHB	2,4-dihydroxybenzophénone
e ⁻	Électron, électrons
E2	17β-estradiol
EDCs	Endocrine disruptive compounds / Perturbateurs endocriniens
EE2	17α-ethynylestradiol
ESI	Electrospray / Nébulisation électrostatique
fwhm	Full width at half maximum
GC	Gas chromatography / Chromatographie en phase gazeuse
GC-MS	Gas chromatography-mass spectrometry / Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HBP	4-hydroxybenzophénone

HCl	Acide chlorhydrique / Hydrochloric acid
HHCB	1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta-(g)-2-benzopyran
HMB	2-hydroxy-4- méthoxylbenzophénone
HPLC	High performance liquid chromatography / Chromatographie liquide à haute performance
ICH	International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use
IS	Internal standard / Étalon interne
LC	Liquid chromatography / Chromatographie liquide
LC-MS	Liquid chromatography-mass spectrometry / Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry / Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem
LDTD	Laser diode thermal desorption / Désorption thermique induite par diode laser
Log P	Logarithm of the ratio of the concentrations of the compound in an organic solvent (in this case octanol) and water / Logarithme du rapport des concentrations du composé dans un solvant organique (dans ce cas-ci l'octanol) et l'eau
LOQ	Limit of quantification / Limite de quantification
m/z	Mass-to-charge ratio / Ratio masse sur charge
MeOH	Methanol / Méthanol
MLD	Method detection limit / Limite de detection de la méthode
MLQ	Method quantification limit / Limite de quantification de la méthode
MS	Mass spectrometry / Spectrométrie de masse
MS/MS	Tandem mass spectrometry / Spectrométrie de masse en tandem
MTBSTFA	N-(t-butyl dimethylsilyl)-N-methyltrifluoroacetamide
n	Number of replicates / Nombre de réplicats
NOR	Northindron / Noréthindrone
OC	Octocrylène

OD-PABA	Octyl dimethyl-p-aminobenzoate
OMC	Octyl méthoxycinnamate
PABA	Acide p-aminobenzoïque
PCB	Polychlorinated bis-phenols
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PhACs	Pharmaceuticals products / Produits pharmaceutiques
PPCPs	Pharmaceuticals and personal care products / Produits pharmaceutiques et de soins personnels
PS-DVB	Polystyrène-divinylbenzène
QqQ	Triple quadripole / Triple quadripôles
R ²	Determination coefficient / Coefficient de détermination
S/N	Signal-to-noise ratio / Rapport signal sur bruit
SBSE	Stir bar Sorptive Extraction / Extraction sur phase solide de barreau d'agitation
SMX	Sulfamethoxazole / Sulfaméthoxazole
SPE	Solid phase extraction / Extraction en phase solide
SPME	Solid phase microextraction / Microextraction en phase solide
SRM	Selected Reaction Monitoring / Balayage sélectif d'ions fragments
THS	Traitement hormonal substitutif
TL	Tube lens
TrBA	Tri-n-butylamine
USEPA	US Environmental Protection Agency
UV	Ultraviolet
WW	Wastewater / eaux usées
WWTP	Wastewater treatment plant / Station de traitement des eaux usées

Remerciements

Je remercie mon directeur de recherche, le professeur Sébastien Sauvé, pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur un projet de maîtrise passionnant et enrichissant en vue de l'obtention d'un diplôme d'études graduées au sein de son groupe de recherche. Je le remercie aussi pour m'avoir encouragé, conseillé et soutenu tout au long du projet.

Je tiens aussi à remercier mes collègues de laboratoire pour leur aide et leur soutien: Paul Fayad, Morgan Sollic, Audrey Roy-Lachapelle, Amel El Messabeb, Caroline Peyrot, Rachel Benoit, Koffi Badjagbo, Khadija Aboufadi et Farida Wissal Rabii. Je tiens à souligner l'effort exceptionnel de mon collègue Paul Fayad pour sa précieuse collaboration et pour sa générosité, tant au niveau de son enseignement scientifique, de son temps, de ses nombreux conseils, de ses encouragements et pour tous les autres aspects qui ont pu contribuer de façon positive à la réussite de mon projet d'étude.

Je remercie aussi ma conjointe Christelle, ma famille et ma belle-famille pour leur intérêt envers mes activités et pour leur soutien de tous les jours. Pendant les moments plus difficiles, ils ont toujours su me faire voir le bon côté des choses et m'encourager à persévérer.

Chapitre 1. Introduction générale

Les contaminants environnementaux suscitent de plus en plus des préoccupations et l'intérêt de la population mondiale, notamment dans les pays industrialisés. Parmi ceux-ci, certains font partie d'une catégorie particulière nommée contaminants émergents. Les contaminants émergents représentent un ensemble de substances dont la présence dans l'environnement n'avait pas été détectée auparavant et dont l'étude et la surveillance sont relativement récentes ou inexistantes. Ce groupe représente potentiellement des molécules cibles pour l'établissement éventuel de normes environnementales, selon leur effet sur la santé des organismes vivants (effet toxicologique) et leur source. Les contaminants émergents regroupent un ensemble hétérogène de composés, on peut y retrouver, par exemple, des produits pharmaceutiques, des perturbateurs endocriniens (ex. hormones), des produits cosmétiques et de soins personnels, des biocides, des agents de préservation (ex. methylparabènes) des surfactants (ex. contenus dans les shampoings), des composés organométalliques, des agents plastifiants, des produits antiseptiques ou désinfectants (ex. triclosan), des fragrances (ex. galaxolide), des produits pour repousser les insectes, etc.

Certains contaminants émergents sont reconnus pour être introduits dans les eaux de surfaces et dans les eaux usées municipales de façon continue. Par exemple, les produits pharmaceutiques et de soins personnels (PPCP) sont des molécules chimiques catégorisées comme étant des contaminants émergents que l'on retrouve dans la plupart des produits de consommation utilisés sur une base quotidienne (ex. médicament, nourriture, crème pour le corps, shampoing). Après leur utilisation, ceux-ci peuvent être absorbés par le corps humain et excrétés dans l'urine et les selles ou être lavés de la surface de notre peau par l'action de l'eau (ex. sous la douche, lors d'une baignade dans un lac) ou de la sueur. Ceci a pour conséquence d'emporter des quantités significatives de ces composés dans l'eau de surface ou dans le réseau d'égouts qui aboutiront éventuellement à l'usine de traitement des eaux usées. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle les effluents des stations d'épuration sont considérés comme étant une source importante d'introduction de produits pharmaceutiques et de soins personnels dans les eaux de surface. En effet, les contaminants

émergents ne sont pas tous éliminés lors de leur passage à travers le système d'épuration des eaux usées d'une ville. Même s'ils sont en partie dégradés ou transformés dans les usines de traitement municipales ou de façon naturelle dans l'environnement, tout ceci est contrebalancé par leur introduction continue [1].

Face à cette situation, les contaminants émergents sont donc souvent considérés comme étant pseudo-persistant. De par leur nature pseudo-persistante, une préoccupation grandissante s'est installée au sujet de leur présence, de leur sort et de leurs effets indésirables sur les organismes vivants, notamment dans la dernière décennie.

1.1. Objectif du projet de maîtrise

Même si l'étude des résidus pharmaceutiques dans l'environnement est un sujet relativement nouveau, une grande quantité d'articles scientifiques dans la littérature a déjà été publiée [2].

L'objectif de ce projet de maîtrise a donc été de développer et de valider une méthode d'analyse rapide, sensible et fiable par désorption thermique induite par diode laser suivie d'une ionisation chimique sous pression atmosphérique et d'une détection par spectrométrie de masse en tandem (LDTD/APCI-MS/MS). Cette méthode a été développée conjointement avec une préconcentration et une purification des échantillons effectuées à l'aide d'une cartouche d'extraction en phase solide (SPE) en mode mixte (ayant des propriétés échangeuse de cations et d'anions). L'intérêt de développer cette nouvelle méthode a été de pouvoir analyser simultanément neuf composés issus de plusieurs classes thérapeutiques différentes, ayant un large éventail de propriétés physico-chimiques et de confirmer l'application de la méthode pour des échantillons réels d'eaux usées. Cette méthode d'analyse multi-résidus pourrait fournir des informations importantes sur le devenir environnemental de divers contaminants émergents présents dans les stations d'épuration et d'évaluer l'élimination de ceux-ci dans le processus d'épuration des eaux usées.

1.2. Structure du mémoire de maîtrise

Ce mémoire de maîtrise débute donc avec une revue des principales catégories de contaminants émergents retrouvées dans les eaux environnementales (chapitre 1), de leurs principales sources d'introduction dans l'environnement (chapitre 2), ainsi qu'une brève description de chacun des contaminants émergents ciblés pour le projet d'étude (chapitre 3). Par la suite, une revue des principales techniques d'extraction, d'enrichissement et de prétraitement des échantillons aqueux (SPE, SPME, SBSE) seront expliquées avec leurs avantages et leurs limitations respectives (chapitre 4). Puisque notre nouvelle méthode d'analyse utilise une extraction en phase solide comme étape de prétraitement des échantillons, une emphase sera mise sur la description des principaux types de matériaux utilisés dans les cartouches SPE et sur les modèles de cartouches les plus utilisés pour le développement de méthodes d'analyse multi-résidus pour quantifier les contaminants émergents (chapitre 4). Par la suite, la chromatographie liquide traditionnelle couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) qui est utilisée couramment dans la littérature pour quantifier les contaminants émergents sera présentée avec certains de ses avantages et limitations (chapitre 5). Les principes généraux de fonctionnement de l'appareil LDTD/APCI couplé à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) seront ensuite expliqués et cela nous permettra de comparer ce nouvel instrument analytique avec les autres instruments analytiques traditionnellement (GC et LC) utilisés pour ce genre d'analyses (chapitre 6). Enfin, les résultats de nos travaux de recherche seront présentés sous forme d'article (chapitre 7). Le tout sera suivi d'une conclusion présentant une synthèse et une discussion générale des résultats, les points essentiels du projet d'étude ainsi qu'une perspective future associée au projet (chapitre 8).

1.3. Principales catégories de contaminants émergents retrouvés dans les eaux environnementales

1.3.1. Produits pharmaceutiques

Parmi les contaminants émergents les plus cités, on retrouve les produits pharmaceutiques. Cette première catégorie de contaminants émergents peut être classifiée selon différents critères. Il peut s'agir d'une classification basée selon leur activité biologique ou leurs effets thérapeutiques (ex. antibiotique, analgésique, antinéoplasique, etc.); selon leur structure chimique au sein d'une même classe de médicaments (ex. la famille des antibiotiques contient des β -lactames, des quinolones, les sulfamides, etc.); selon leur mode d'administration ou leur zone d'application (ex. voie gastro-intestinale, épidurale, intramusculaire, etc.) ou même selon leur mode d'action (ex. agent alkylant, β -bloqueurs, etc.). Indépendamment de leur classification, tous les produits pharmaceutiques retrouvés dans l'environnement sont d'intérêts puisqu'ils ont une activité biologique pouvant avoir un impact potentiel sur les organismes vivants.

Par définition, ces molécules biologiquement actives sont conçues, développées et commercialisées pour le traitement des maladies ou des infections et l'amélioration de la qualité de vie. Dans les dernières décennies, les progrès de la technologie et de la recherche en matière de santé ont contribué au développement et à l'apparition d'un très grand nombre de nouveaux produits pharmaceutiques. Par contre, l'utilisation accrue d'un nombre grandissant de produits pharmaceutiques par la population n'a pas que des effets bénéfiques. En effet, leur consommation accrue résultent en une augmentation de leur de leur concentration dans l'environnement. Par ailleurs, les contaminants émergents sont souvent considérés comme étant pseudo-persistants puisqu'ils sont continuellement consommés et introduits dans l'environnement soit sous leur forme inchangée ou sous forme de métabolites et sous-produits.

1.3.2. Produits de soins personnels

Dans la littérature, les produits de soins personnels sont généralement regroupés selon différentes catégories en lien avec leur utilisation respective. Les principales catégories répertoriées sont les composés organiques filtrant les rayons UV, les composés antiseptiques ou désinfectants, les agents de préservation, les agents utilisés comme fragrances ou parfum et les agents utilisés pour repousser les insectes.

Premièrement, il existe deux principaux types d'agent filtrant les rayons UV et vendu commercialement, soit agents organiques qui absorbent les rayons UV et les agents inorganiques qui reflètent les rayons UV. Les agents filtrants organiques sont de plus en plus utilisés dans les produits de soins personnels et on les retrouve surtout dans les produits cosmétiques tels que la crème solaire et la crème hydratante pour le corps, les baumes à lèvres, les shampoings, les teintures à cheveux, etc. À titre d'exemple, on retrouve des molécules telles que la benzophénone-3 (BP-3), le 4-hydroxybenzophénone (HBP), le 2-hydroxy-4-méthoxybenzophénone (HMB), le 2,4-dihydroxybenzophénone (DHB), l'octyl méthoxycinnamate (OMC), l'octocrylène (OC) et l'octyl diméthyl-p-aminobenzoate (OD-PABA). La plupart de ces composés ont un caractère hydrophobe fort et leur structure contient souvent des cycles aromatiques conjugués. Leurs propriétés physico-chimiques leur confèrent également une bonne stabilité par rapport à une éventuelle biodégradation [3]. Concernant leur toxicité, certains auteurs ont rapporté que plusieurs composés issus de cette classe possédaient des activités oestrogéniques similaires à celle de certaines hormones [3-5] telle que le 17β -estradiol (E2) [6] tandis que d'autres études ont démontré leur toxicité potentielle [7].

Un deuxième type de produits de soins personnels sont les produits antiseptiques et les désinfectants. Ceux-ci sont des composés qui tuent ou qui préviennent la croissance des microbes (ex : bactéries, virus, champignons). Dans la dernière décennie, ces produits ont reçu une attention croissante de la part de la communauté scientifique en raison de leur toxicité microbienne et algale assez élevée ainsi que leur tendance à favoriser une certaine résistance microbienne [8]. À titre d'exemple, parmi les agents antiseptiques les plus utilisés, on retrouve le triclosan. Ce type de composé se retrouve dans le dentifrice, les

savons, les déodorants, les crèmes pour le corps, les produits cosmétiques, etc. Comme plusieurs autres produits antiseptiques, le triclosan n'est pas très soluble dans l'eau, mais plutôt liposoluble. Cette propriété lui donne la capacité de traverser facilement les membranes cellulaires et donc d'être absorbé par le corps humain.

Un troisième type de produits de soins personnels sont les agents de préservation [9]. Ceux-ci sont retrouvés dans un grand nombre de produits de consommation que l'on achète chaque jour tel que la nourriture (ex. fruits et légumes). Parmi les plus utilisés, on retrouve les composés issus de la famille des parabènes tels que le méthylparabène, l'éthylparabène, le propylparabène et le benzylparabène. Ceux-ci sont utilisés, entre autres, pour éviter la détérioration et ainsi augmenter la durée de vie d'une grande variété de produits (ex. savon, crème, nourriture, produits cosmétiques et pharmaceutiques). Ils ont généralement un pH neutre et aucune odeur ou goût perceptible. Aussi, ils ne provoquent pas la coloration des produits dans lesquels ils se retrouvent et ne changent pas leur texture ni leurs propriétés. Ils sont aussi peu dispendieux et inertes. À première vue, il s'agit de composés de choix pour accomplir un travail de conservation. Par contre, de nos jours, les composés de la famille des parabènes sont de moins en moins utilisés puisque ceux-ci sont des composés persistants à fort potentiel de perturbation endocrinienne et pouvant ainsi avoir un impact négatif sur les organismes vivants [9].

Un quatrième type de produits de soins personnels sont les fragrances synthétiques. Celles-ci sont aussi des molécules chimiques que l'on retrouve dans un grand nombre de produits de consommation que l'on achète souvent dans notre vie quotidienne tels que les parfums, les lotions pour le corps, les déodorants, les détergents à lessive, etc. Les fragrances peuvent avoir une structure chimique de type «nitroaromatique» tel que le «musk xylene» (1-tert-butyl-3,5-dimethyl-2,4,6-trinitrobenzene) ou le «musk ketone» (4-tert-butyl-2,6-dimethyl-3,5-dinitroacetophenone). Leur structure peut aussi être de type polycyclique tel que le 7-acetyl-1,1,3,4,4,6-hexamethyl-1,2,3,4 tetrahydronaphthalene (AHTN) appelé aussi «tonalide» ou le 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta-(g)-2-benzopyran (HHCB) appelé communément «galaxolide». Les fragrances synthétiques ont pour objectif de masquer les mauvaises odeurs présentes dans un produit industriel. Tout comme plusieurs autres produits de soins personnels, on les

retrouve aussi dans les eaux de surface et les eaux usées. Ces molécules sont lipophiles et ont tendance à s'accumuler dans les sédiments et les boues. Elles ont aussi suscité l'attention de la communauté scientifique de par leur capacité à traverser les membranes cellulaires et à s'accumuler dans le corps humain. À titre d'exemple, jusqu'à 190 ng de ce type de fragrances synthétique par gramme de lipide ont été retrouvé chez l'humain [10] et certaines études ont aussi démontré leur présence dans des échantillons de lait maternel [11].

1.3.3. Produits utilisés en médecine vétérinaire

En médecine vétérinaire, les produits pharmaceutiques sont employés comme promoteurs de croissance, pour contrôler le processus de reproduction, comme aliments médicamenteux pour les animaux ou directement comme agent de thérapie pour le traitement et la prévention de certaines infections. Il existe de nombreuses classes d'antibiotiques (ex. macrolides, sulfamides, quinolones, tétracyclines) utilisées en médecine vétérinaire et celles-ci font souvent partie de l'alimentation des animaux d'élevage afin de prévenir ou traiter d'éventuelles maladies [12].

Les produits utilisés en médecine vétérinaire sont utilisés à des quantités très élevées, et ce, un peu partout sur la planète. Par exemple, par le passé, l'Union européenne et la Suisse ont déjà utilisé plus de 4 000 tonnes d'antibiotiques à usage vétérinaires par année et les États-Unis ont déjà utilisé plus de 11 000 tonnes en 2001 [13, 14]. Au même titre que plusieurs autres produits pharmaceutiques, les produits utilisés en médecine vétérinaire sont aussi excrétés dans l'urine et les excréments des animaux. Les excréments des animaux sont généralement épandus sur les terres agricoles afin d'enrichir le sol, ce qui contribue du même coup à la contamination de celui-ci. Les antibiotiques utilisés comme promoteurs de croissance ou agents de thérapie sont souvent excrétés sous leur forme active à des taux pouvant aller jusqu'à 95% de la dose administrée [15]. C'est d'ailleurs une des raisons pour lesquelles les champs d'agriculture sont reconnus comme étant une des principales sources de contamination aux antibiotiques vis-à-vis des eaux de surfaces [16].

Un phénomène qui n'avait pu être démontré jusqu'à présent est venu accentuer les recherches scientifiques vers l'impact des antibiotiques rejetés dans l'environnement. Ce phénomène est celui de la résistance aux antibiotiques par les bactéries. Par définition, la résistance aux antibiotiques se définit comme étant la capacité d'un micro-organisme à désactiver l'effet toxique des antibiotiques par l'acquisition et le développement de mécanismes de défense ou de protection [17]. La résistance aux antibiotiques est donc un phénomène d'adaptation qui découle de la présence continue et répétée d'un agent extérieur qui ne se retrouvait pas dans l'environnement à l'origine (ex. la présence d'antibiotiques dans les eaux de surface). Lors d'une telle situation, l'accroissement de la résistance est accru puisque seules les espèces ayant la capacité de contrer l'effet des antibiotiques pourront survivre et qu'elles transmettront cette capacité à leurs descendants. Différentes études ont d'ailleurs démontré qu'une faible dose d'antibiotiques pouvait, à long terme, contribuer à favoriser le développement d'une résistance chez les bactéries [18]. De plus, depuis quelques années déjà, des bactéries résistantes ont été identifiées comme étant le résultat des traitements aux antibiotiques lors des opérations d'aquaculture [19-21]. Ces exemples démontrent bien les risques associés aux rejets dans l'environnement de ce type de contaminants émergents.

1.3.4. Les perturbateurs endocriniens

Les perturbateurs endocriniens sont une classe de composés regroupant une multitude de contaminants émergents que l'on retrouve dans les milieux domestiques et hospitaliers. Ils se divisent généralement en deux catégories, soit ceux qu'on retrouve de façon naturelle et ceux qui ont été synthétisés. Selon la «US Environmental Protection Agency» (USEPA), les perturbateurs endocriniens sont des molécules qui peuvent interférer dans la synthèse, la sécrétion, le transport, l'action ou l'élimination des hormones naturelles présentes dans le corps humain. Celles-ci jouent un rôle important dans l'équilibre de fonctionnement au niveau du système reproducteur, de la croissance, du développement et du comportement [22]. Plus précisément, les perturbateurs endocriniens peuvent agir en imitant l'effet des hormones, en interfèrent dans la synthèse et le métabolisme des hormones ou en interfèrent avec les récepteurs des organismes associés aux hormones. De façon indirecte, elles influencent donc le système endocrinien des

organismes et causent souvent l'apparition d'un niveau excessif d'hormones ou une diminution de la sécrétion qui se traduit par une concentration trop faible.

À ce jour, il existe des dizaines de milliers de composés chimiques suspectés d'avoir des effets perturbateurs au niveau du système endocrinien. De façon générale, on peut regrouper les perturbateurs endocriniens selon quatre groupes différents :

- 1) Les hormones naturelles et synthétiques.
- 2) Certains produits pharmaceutiques et de soins personnels provoquant des effets secondaires similaires à ceux causés par les hormones.
- 3) Certains produits chimiques industriels et domestiques (ex. certains plastifiants, alkylphénol, solvant organique ou les «polychlorinated bis-phenols» appelés PCB).
- 4) Certains sous-produits chimiques industriels ou domestiques (ex. les «polycyclic aromatic hydrocarbons»).

Les perturbateurs endocriniens reçoivent aussi un intérêt particulier des scientifiques puisqu'ils peuvent être biologiquement actifs à des concentrations très faibles par rapport à d'autres composés. Même à très faible concentration, ils peuvent avoir un impact important sur la santé humaine, ce qui a contribué à accroître leur étude au sein de la communauté scientifique [23-30]. Selon certains auteurs, il existe suffisamment d'évidences afin de faire certains liens directs entre la présence de certains perturbateurs endocriniens dans l'environnement et certains défauts de reproduction chez divers organismes de la faune et même chez les humains [31, 32]. Parmi les effets potentiellement associés aux perturbateurs endocriniens, on fait mention des effets suivants:

- 1) Problèmes de fertilité.
- 2) Développement sexuel précoce ou incomplet.
- 3) Déficit d'attention ou hyperactivité.
- 4) Altération de la fonction corticale de la glande thyroïde et des glandes surrénales.
- 5) Malformations congénitales.

C'est d'ailleurs le cas de certaines hormones, tel que le 17α -éthynylestradiol, que l'on retrouve dans les pilules anticonceptionnelles [33]. Dans ce cas, il a été démontré qu'un seul nanogramme (ng) d'hormones stéroïdes dans un litre d'eau était suffisant pour perturber le système endocrinien des poissons et diminuer leur fertilité, voire causer l'hermaphrodisme ou la féminisation des mâles [34].

1.3.5. Les biocides

Les biocides sont des substances chimiques utilisées pour lutter contre des bactéries ou des micro-organismes nuisibles. Le terme «biocide» est plutôt général et englobe les insecticides, les fongicides et les herbicides qui s'attaquent, respectivement, aux insectes ravageurs, aux champignons et aux mauvaises herbes/plantes. L'utilisation de biocides peut donc diminuer ou éliminer la présence de micro-organismes indésirables pour ainsi répondre à des besoins divers. Parmi ces besoins, on retrouve la régulation de la croissance de certains organismes végétaux (pour la production de nourriture), l'élimination de certains problèmes d'hygiène publique (présence d'insectes dans les habitations), de santé publique (présence d'insectes parasites comme les poux, les puces, etc.), de santé vétérinaire ou pour les surfaces non agricoles (routes, réseaux électriques, aéroport, port, voies ferrées, etc.).

1.4. Contaminants émergents sélectionnés dans le cadre du projet de maîtrise

Dans le cadre de ce projet d'étude, nous avons sélectionné divers contaminants émergents pour le développement de notre nouvelle méthode d'analyse par LDTD. Afin de choisir un nombre restreint de molécules cibles, nous avons utilisé différents critères. Au niveau des pesticides, l'atrazine et son métabolite principal, le deséthylatrazine, ont été sélectionnés parce qu'ils représentent des molécules de référence clé en ce qui a trait aux pesticides utilisés en milieu agricole, notamment. Au niveau des produits pharmaceutiques, nous voulions que ceux-ci soient commercialement disponibles au Québec, et ce, afin d'avoir une chance de les retrouver dans les échantillons d'eau usée municipale de la

province de Québec. Leur disponibilité commerciale a été vérifiée auprès de plusieurs pharmaciens de la bannière Jean Coutu et Pharmaprix. Deuxièmement, nous voulions que ceux-ci soient issus de diverses classes thérapeutiques, et ce, afin que notre sélection soit représentative de la multitude de médicaments consommés chaque jour par la population. Enfin, toujours concernant les produits pharmaceutiques, ceux sélectionnés devaient se retrouver au moins en partie sous forme de molécule mère inchangée suite à leur excrétion par l'urine ou les selles des humains ou animaux afin de maximiser les chances de pouvoir les détecter et les quantifier. Ce dernier critère a été vérifié grâce aux données pharmacologiques fournies par la base de données e-CPS [35]. La figure 1 ci-dessous représente donc les molécules sélectionnées pour le projet de maîtrise.

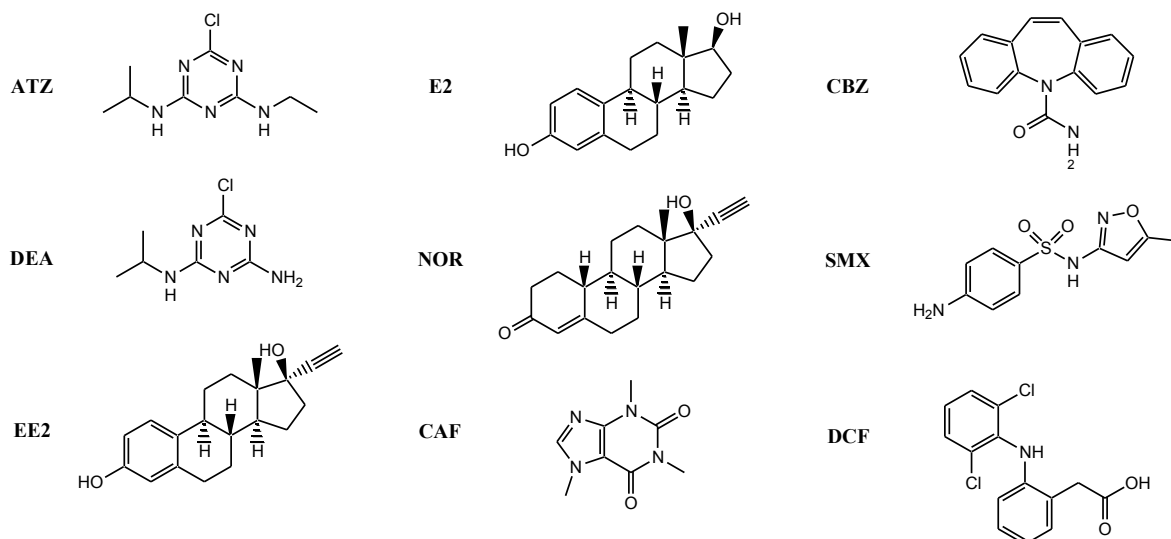


Figure 1. Structure des contaminants émergents sélectionnés pour le projet de maîtrise.

Chapitre 2. Principales sources d'introduction dans l'environnement des catégories de contaminants émergents ciblés dans le projet d'étude

2.1. Produits pharmaceutiques utilisés pour la médication humaine

Dans la littérature, la présence de produits pharmaceutiques dans les eaux environnementales a été démontrée vers le début des années 1970 par différents auteurs tels que Tabak et Brunch [36] ainsi que Norpoth et al. [37]. Les premières études rapportant la présence de produits pharmaceutiques dans les eaux usées remontent au début des années 1980 [38, 39]. De façon générale, les voies de contamination principales sont de nature domestique, industrielle ou agricole. Il est à noter que parmi ces diverses sources, les humains et les animaux sous traitement médical contribuent majoritairement à l'introduction de ces produits pharmaceutiques via leur excrétion naturelle (l'urine, les selles, la sueur et les vomissements) des médicaments sous forme de molécule mère biologiquement active et non métabolisée ou de métabolites biologiquement actifs ou non [40, 41]. Ainsi, lorsqu'un individu consomme un médicament, une partie de celui-ci est éliminée sous forme de molécule originale (non métabolisée) par les voies d'excrétion naturelles telles que l'urine ou les selles. L'autre partie du médicament, elle, est généralement métabolisée par le foie et éliminée par le corps par les mêmes voies d'excrétion naturelles sous forme d'un ou de plusieurs métabolites. Par exemple, en analysant le mode d'excrétion de plusieurs centaines de produits pharmaceutiques, Lienert et al. [42] ont démontré qu'en moyenne, 64% ($\pm 27\%$) étaient excrétés via les urines et 35% ($\pm 26\%$) via les selles. Au niveau de l'urine, 42% ($\pm 28\%$) de ceux-ci étaient excrétés sous forme de métabolites. Une partie importante des médicaments ingérés se retrouvent donc dans les eaux usées domestiques et dans les eaux usées des hôpitaux. Au niveau de l'utilisation humaine, la disposition des médicaments inutilisés ou périmés dans la toilette ou l'évier contribue aussi à l'incorporation des produits pharmaceutiques et de soins personnels (PPCP) dans les systèmes d'eaux usées.

Dans le cas de la médication humaine, il arrive donc souvent que les substances actives des médicaments ne soient pas entièrement absorbées par le corps et parviennent aux stations d'épuration des eaux usées urbaines. Cependant, les méthodes de traitement des eaux usées actuelles ne peuvent pas éliminer entièrement toutes ces substances. Conséquemment, ces résidus peuvent passer à-travers les stations d'épuration et atteindre les eaux de surface comme les rivières et les lacs. D'autres émissions peuvent aussi être le résultat de fuites dans les égouts, suite aux débordements des bassins d'orage lors de fortes chutes de pluies ou provenir de boues d'épuration lorsqu'elles sont utilisées en agriculture. La conséquence de ces émissions est que des résidus pharmaceutiques, même en très faibles concentrations, peuvent être détectés dans les eaux de surface voire dans l'eau destinée à la production d'eau potable. Par ailleurs, plusieurs composés pharmaceutiques tels que les antidépresseurs, les β -bloqueurs et les régulateurs lipidiques peuvent aussi être sujet à de la bioaccumulation/bioconcentration chez les organismes aquatiques [43-45].

Les perturbateurs endocriniens se retrouvent aussi dans les biosolides présents dans les décanteurs des usines d'épuration des eaux usées municipales. Puisque l'épandage des boues d'épuration sur les sols agricoles est une pratique courante dans plusieurs régions, il n'est pas surprenant que ces composés chimiques aient été retrouvés dans les nappes d'eau souterraine se trouvant sous les sites où l'épandage de ces boues a eu lieu [46-48]

Parmi les autres sources possibles d'introduction des produits pharmaceutiques et de soins personnels dans l'environnement, il existe aussi les voies d'introduction suivantes :

- 1) La disposition de déchets industriels ou de produits provenant de laboratoires clandestins ou issue d'une utilisation illégale.
- 2) La décharge des ordures ménagères et des déchets médicaux dans le sol et qui se retrouvent éventuellement dans les eaux souterraines via le ruissellement provenant des décharges municipales ou des sites d'enfouissement.
- 3) La disposition des animaux euthanasiés et des carcasses animales qui ont ingérés des médicaments.
- 4) Le relargage d'eaux usées traitées ou non traitées par les hôpitaux dans le système d'eaux usées domestiques.

- 5) La disposition de médicaments dans les déchets et les eaux usées par les pharmacies et les cliniques médicales.
- 6) Les fuites souterraines de l'infrastructure des réseaux d'égout.
- 7) Le débordement des eaux d'égout non traitées qui se retrouve directement dans les eaux de surface. Ces débordements ou refoulements d'égouts sont généralement causés par des pluies abondantes, un bris dans le système d'égouts ou une catastrophe naturelle tel qu'un tremblement de terre.

2.2. Produits pharmaceutiques utilisés en médecine vétérinaire

Les produits pharmaceutiques utilisés en médecine vétérinaire, tout comme ceux utilisés pour la médication humaine, pénètrent aussi dans le sol et l'eau de surface par l'épandage du lisier ou purin sur les terres agricoles. En effet, l'épandage des boues d'épuration sur les sols agricoles est une pratique courante. Les boues d'épuration municipale sont les principaux déchets produits par une station d'épuration à partir des effluents liquides qu'elle reçoit. Ces boues proviennent de l'épuration des eaux usées municipales, acheminées par les réseaux d'eaux usées et d'eaux d'égout jusqu'aux stations d'épuration. Elles résultent de l'activité biologique des micro-organismes vivant dans ces stations, qui transforme les matières transportées par les eaux usées pour qu'elles puissent en être extraites. Elles sont constituées essentiellement d'eau, de sels minéraux et de matières organiques diverses. Elles sont donc obtenues séparées des eaux usées pendant le processus de traitement et habituellement accumulées dans le fond des décanteurs. L'épandage agricole, lui, ne concerne pas que les boues d'épuration, mais plusieurs autres matières telles que les excréments animaux (ex. fumier de bovins), les sous-produits industriels organiques de certains types d'entreprises (ex. agroalimentaire, papeteries, etc.) ainsi que les sous-produits issus des collectivités et des ménages (ex. le compost). Puisque les excréments des animaux de ferme contiennent une multitude de médicaments provenant de leur alimentation ou de leur traitement, les produits pharmaceutiques à usage vétérinaire atteignent donc directement les eaux de surface par drainage ou s'infiltrent dans les sols pour atteindre les eaux souterraines.

Au niveau de l'aquaculture (culture des poissons, des mollusques, des crustacés et des plantes aquatiques en eau douce ou salée), des antibiotiques sont généralement administrés dans la nourriture ou sont directement introduits dans les eaux de surface. Ces substances sont donc introduites directement dans l'environnement aquatique via la nourriture non consommée. Les antibiotiques ainsi libérés peuvent ensuite se déposer ou s'adsorber sur les sédiments dans l'eau [49].

2.3. Les pesticides

Les sources principales d'émissions de pesticides dans l'atmosphère et dans l'eau de pluie sont la volatilisation de ceux-ci pendant leur application ou à partir des sols et des espèces végétales dans les champs d'agriculture ainsi que l'érosion des sols par le vent [50, 51]. Une fois volatilisés dans l'atmosphère, les pesticides peuvent être transportés par les vents sur de très grandes distances par rapport à leur site d'origine où ils ont été utilisés. Cette distance peut dépendre, entre autres, de la force du vent, de leur demi-vie dans l'atmosphère, de leur réactivité ainsi que de leur taux de dégradation due à une exposition à la chaleur et à l'humidité présente dans l'environnement.

Les pesticides peuvent aussi pénétrer dans le milieu aquatique en étant emportés avec les eaux de ruissellement provenant des champs préalablement traités, à la suite d'un déversement accidentel pendant le traitement d'un champ pour l'agriculture, à la suite d'un déversement illégal ou d'une mauvaise gestion concernant l'élimination de ces substances [51]. Le coefficient de partition octanol/eau de plusieurs pesticides est assez faible, ce qui leur confère une propension à se solubiliser facilement dans l'eau. Cela signifie que ce type de molécules, une fois appliqué sur les végétaux d'un champ agricole, peut facilement se faire lessiver ou solubiliser par l'eau de pluie ou par les dispositifs d'arrosage pour ensuite se retrouver dans le sol. Ainsi, dans les endroits où ces substances sont utilisées de façon intensive, les nappes d'eau souterraines, les lacs, les rivières et les autres eaux de surface et souterraines peuvent facilement être contaminés au fil du temps via le ruissellement. Mentionnons aussi que la vaporisation de certains insecticides pour la culture des arbres fruitiers (ex. pommiers) représente une introduction directe dans l'atmosphère. À titre

d'exemple, l'un des pesticides les plus utilisés dans le monde, l'atrazine, a été fréquemment détecté dans les différentes sources d'eaux naturelles en Amérique du Nord.

2.4. Les produits de soins personnels

Les produits de soins personnels sont majoritairement transférés dans l'environnement via les eaux de surface. En effet, ceux-ci représentent une gamme de molécules qui se retrouvent souvent dans les produits pour le soin du corps (parfum, crème solaire, crème pour le corps, shampoing, etc.) et sont donc appliqués directement à la surface de celui-ci. Lorsque qu'une personne décide de prendre une douche ou de se baigner à la plage, une quantité significative des produits appliqués sur le corps sont lavés par l'eau et se retrouvent, respectivement, dans le système d'eau usée domestique et dans l'eau du lac, de la rivière ou de l'océan. Rajoutons que d'autres activités contribuent aussi à l'introduction de ce type de composés dans les eaux environnementales telles que le lavage des vêtements ou leur disposition dans les ordures ménagères.

Chapitre 3. Description des contaminants émergents ciblés pour le projet d'étude

Compte-tenu de leur consommation fréquente, de leur introduction continue dans l'environnement ainsi que de leurs impacts potentiels importants sur les organismes vivants, toutes les catégories de contaminants émergents représentent des cibles intéressantes pour un projet d'étude en vue de leur détection et de leur quantification dans l'environnement. Dans notre projet d'étude, certaines molécules ont été sélectionnées parce qu'elles sont de bonnes représentantes de leur classes respectives, qu'elles se retrouvent dans l'environnement sous forme inchangée ou non métabolisée (molécule originale) et qu'elles ont donc une bonne chance de se retrouver à une concentration significative dans les eaux usées due à leur volume d'utilisation élevé. Dans les prochaines sections de ce mémoire, chacun des contaminants émergents ciblés sera décrit brièvement quant à son utilisation courante.

3.1. Description de l'atrazine et de son métabolite principal, le deséthylatrazine

L'atrazine est un herbicide faisant partie de la famille des triazines et qui est l'un des plus populaires à travers le monde. Cet herbicide est utilisé principalement pour le traitement du maïs, de plusieurs légumes verts, des plantes herbacées de la famille des graminées (ex. plante céréalière), de la canne à sucre, etc. Cette molécule a été enregistrée pour la première fois aux États-Unis en 1958 [52]. Seulement aux États-Unis, l'utilisation de l'atrazine comme traitement en agriculture a excédé 32000 tonnes US par année durant les 15 dernières années [53-56]. L'atrazine et ses différents métabolites sont plutôt mobiles dans l'environnement et compte parmi les pesticides les plus détectés aux États-Unis dans les eaux de surfaces et les eaux souterraines [57-59]. L'atrazine est considéré peu toxique pour les mammifères et les oiseaux, mais modérément à hautement toxique pour les poissons et les espèces aquatiques de la famille des invertébrés [52]. Des études démontrent aussi l'effet toxique de l'atrazine pour les plantes terrestres et aquatiques non ciblées à des

concentrations aussi faibles que $20 \mu\text{g L}^{-1}$ [60, 61]. De plus, l'atrazine peut être directement toxique pour les amphibiens [62]. D'autres études ont aussi indiqué que l'atrazine peut induire des anomalies dans le développement des amphibiens, des reptiles et des poissons à des concentrations aussi faibles que $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ [63-68]. De nombreux pesticides sont aussi connus pour avoir des propriétés œstrogéniques ou anti-androgène avec une variété d'espèces. Parmi ces pesticides, l'atrazine en est un qui a ces propriétés sur les grenouilles, les poissons et les amphibiens [69-71]. Des études en laboratoire [72-74] et sur le terrain [75, 76] ont démontré que l'atrazine pouvait aussi être dégradé par hydrolyse, radiations UV et activité microbienne menant principalement à la formation de divers métabolites. Le métabolite principal de l'atrazine est le deséthylatrazine (DEA). Selon certaines études, la présence de l'atrazine et de ses métabolites a mené à l'évolution d'espèces davantage résistantes par rapport à n'importe quels autres herbicides [77, 78]. On rapporte aussi que les pesticides peuvent contaminer les crustacés [79, 80] et les huîtres [81].

Au niveau de son mode d'action spécifique, l'atrazine est un pesticide qui a été développé pour agir comme une phytotoxine à travers un mécanisme d'action unique pour cibler les plantes. Le potentiel de toxicité de l'atrazine est donc plus grand pour les plantes que pour les autres espèces (ex : animaux, humains, etc.). Chez les plantes ciblées, l'atrazine va inhiber la photosynthèse en entrant en compétition avec la plastoquinone II à son site de liaison dans le processus de transport des électrons dans le photosystème II [82]. Cette inhibition entraîne la cessation de la synthèse des glucides, conduisant à une réduction ultérieure de la réserve de carbone et d'une accumulation de CO_2 dans les cellules végétales [83]. Lorsque les plantes exposées à l'atrazine sont retirés et remise dans un environnement qui ne contient pas d'atrazine, le niveau d'activité photosynthétique redevient donc à la normale [84-86].

3.2. Description du sulfaméthoxazole

Les antibiotiques tel que le sulfaméthoxazole sont des substances capables d'inhiber la croissance des bactéries ou de les détruire, et ce, de façon sélective sans affecter les cellules hôtes. Plusieurs antibiotiques existent déjà dans la nature de façon naturelle telle que ceux fabriqués par les micro-organismes, les champignons ou certaines bactéries. De

façon générale, les antibiotiques naturels qui sont produits par certains organismes vivants ont comme objectif l'élimination des bactéries qui pourraient entrer en compétition, dans leur environnement, pour s'accaparer les substances nutritives disponibles et essentielles pour leur croissance. Leur toxicité sélective démarque donc les antibiotiques des autres substances capables d'éliminer certains micro-organismes de façon non sélective tels que les antiseptiques ou les désinfectants.

Même s'ils réduisent fortement le risque d'infection, l'usage généralisé de certains antibiotiques en traitement préventif, curatif ou en complément alimentaire dans l'alimentation animale, dans les piscicultures ou encore en médecine vétérinaire, a conduit au développement de population de microbes résistants et à une augmentation du risque nosocomial. À ce jour, une des principales inquiétudes de la communauté scientifique par rapport à la présence d'antibiotiques dans l'environnement aquatique est leur contribution potentielle à la prolifération de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries. La résistance aux antibiotiques est définie comme la capacité d'un micro-organisme à désactiver l'effet toxique des antibiotiques par l'acquisition des mécanismes de protection.

Le sulfaméthoxazole, l'un des antibiotiques les plus utilisés, est utilisé pour le traitement des infections attribuables aux organismes gram-négatif et gram-positif tels que l'*haemophilus influenzae*, la *neisseria gonorrhoeae*, l'*escherichia coli*, le *staphylococcus pyogenes* et le *diplococcus pneumoniae*. Il est aussi utilisé pour le traitement des infections des voies urinaires, des infections des voies respiratoires, de la pneumonie et des infections des voies gastro-intestinales.

Le sulfaméthoxazole, lors de son utilisation en médecine humaine, est généralement utilisé conjointement avec une autre molécule, soit le triméthoprim. Le sulfaméthoxazole et le triméthoprim interviennent de façon séquentielle sur deux étapes enzymatiques successives de la synthèse bactérienne de l'acide tétrahydrofolique. Le sulfaméthoxazole inhibe de manière compétitive la tétrahydroptéroate synthétase, ce qui empêche l'incorporation d'acide p-aminobenzoïque (PABA) dans l'acide tétrahydroptéroïque, précurseur immédiat de l'acide folique. Le triméthoprim, quant à lui, inhibe la dihydrofolate réductase, ce qui prévient la conversion de l'acide dihydrofolique en acide tétrahydrofolique. La combinaison de ces deux agents a donc un effet synergique, dont le résultat est une diminution de la capacité de la bactérie à synthétiser la thymidine. Le sulfaméthoxazole seul est bactériostatique et le triméthoprim est bactéricide. La combinaison de ces deux composés est habituellement bactéricide. Deux raisons expliquent la sélectivité du sulfaméthoxazole-triméthoprim envers les microorganismes:

- Les cellules des mammifères sont incapables de synthétiser l'acide folique, qui doit donc provenir de source alimentaire.
- Bien que les réactions que catalyse la dihydrofolate réductase soient également essentielles chez les êtres humains, le triméthoprim est de 50 000 à 100 000 fois plus actif contre l'enzyme bactérienne que contre l'enzyme humaine.

3.3. Description des hormones [35]

Les hormones stéroïdiennes naturelles ou synthétiques sont utilisées en médecine, en particulier dans le traitement hormonal substitutif (THS) et pour le traitement de certains problèmes gynécologiques. Par exemple, le traitement hormonal substitutif de la ménopause permet de compenser l'insuffisance des sécrétions ovariennes d'œstrogènes et de progestérone responsables de troubles à court et à long terme. Il est efficace sur les symptômes de la ménopause (ex : bouffées de chaleur, fatigue accrue) et sur la prévention de l'ostéoporose. Au niveau de l'ostéoporose ce type de traitement permet de retarder les risques de 10-15 ans pour les mener vers l'âge de 80-85 ans. Elle fait également reculer la

principale cause de mortalité des femmes après 50 ans, à savoir les maladies cardiovasculaires. Avec un apport d'œstrogènes, les risques d'infarctus seraient en effet diminués de 40 %. Les hormones sont également utilisées dans le traitement du cancer de la prostate et du sein chez les hommes (tout comme les femmes, les hommes ont aussi des tissus mammaires et peuvent donc développer un cancer du sein) ainsi que pour le cancer du sein chez les femmes post-ménopausées.

3.3.1. Description du 17 α -éthynylestradiol

Le 17 α -éthynylestradiol [35] est un bon exemple d'hormone qui peut être utilisée en médecine humaine pour traiter divers troubles gynécologiques et du cancer du sein chez la femme post-ménopausée. Cependant, son principal usage réside dans les contraceptifs oraux, où elle est habituellement administrée en association avec un progestatif de synthèse.

En résumé, le 17 α -éthynylestradiol est utilisé pour les différents aspects suivants :

- Pour la prévention de la grossesse.
- Dans le traitement de l'acné vulgaire d'intensité modérée chez les adolescentes de 14 ans et plus.
- Le soulagement des symptômes de ménopause et de post-ménopause liés aux états de carence en oestrogènes produites par la chirurgie ou apparaissant de manière naturelle.
- Le traitement symptomatique de l'atrophie vaginale et vulvaire associées à la ménopause.
- La prévention de l'ostéoporose liée aux états de carence en oestrogènes produits par la chirurgie ou de manière naturelle.

3.3.2. Description de l'estradiol

L'estradiol [35], produit en majeure partie par les follicules ovariens depuis l'apparition des premières règles jusqu'à la ménopause, est le type d'oestrogène le plus actif. Il participe largement au développement et à l'entretien du système reproducteur et

des caractères sexuels secondaires de la femme. Après la ménopause, lorsque les ovaires ont cessé de fonctionner, l'organisme ne produit plus que de faibles quantités d'estradiol provenant de l'aromatation (phénomène assuré par l'enzyme aromatase) de l'androstènedione en estrone et, dans une moindre mesure, de la testostérone en estradiol. L'estrone est ensuite transformée en estradiol par l'enzyme 17β -hydroxystéroïde déshydrogénase. Ces enzymes sont présentes dans les tissus adipeux, hépatique et musculaire.

L'arrêt de la production ovarienne de 17β -estradiol après la ménopause peut provoquer les phénomènes suivants : instabilité de la régulation thermique se traduisant par des bouffées de chaleur accompagnées de troubles du sommeil et de sudation excessive, une perte accélérée de la matrice osseuse et de la substance minérale de l'os menant à l'ostéoporose, une modification du métabolisme des lipides et atrophie génito-urinaire à l'origine de la dyspareunie et de l'incontinence urinaire.

Au niveau de la médecine vétérinaire, le 17β -œstradiol est aussi utilisé pour favoriser la croissance des animaux d'élevage.

3.3.3. Description de la noréthindrone

La noréthindrone [35] est utilisée conjointement avec l'éthynylestradiol et est indiquée principalement pour la prévention de la grossesse en provoquant l'inhibition de l'ovulation chez la femme.

3.4. Description du diclofénac

Le diclofénac [35] est un anti-inflammatoire non stéroïdien utilisé pour le traitement symptomatique de la polyarthrite rhumatoïde et de l'arthrose ainsi que pour l'arthropathie dégénérative de la hanche. Le diclofénac inhibe la synthèse des prostaglandines en s'opposant à l'action des synthétases des prostaglandines. Cet effet inhibiteur pourrait expliquer en partie son mode d'action. Son mode d'action repose aussi sur l'inhibition des

cyclooxygénases de types 1 et 2 (COX-1 et COX-2). Ces enzymes présentes partout dans l'organisme participent à la production des prostaglandines, qui sont d'importants médiateurs de la douleur, de la fièvre et des réactions d'adaptation et de protection de nombreux organes et tissus (enflammés).

3.5. Description de la carbamazépine

La carbamazépine [35] est indiquée comme anticonvulsivant administrée seule ou en association avec d'autres anticonvulsivants (ex : épilepsie). Elle est aussi indiquée dans le soulagement symptomatique de la névralgie du trijumeau durant les périodes d'exacerbation de la névralgie du trijumeau essentielle ou primaire (tic douloureux). On peut aussi administrer la carbamazépine seule ou conjointement avec le lithium dans le traitement de la manie aiguë ou des troubles bipolaires (maniaco-dépressifs) chez les patients qui ne répondent pas ou qui ne tolèrent pas les médicaments traditionnels.

3.6. Description de la caféine

La caféine [35] est une molécule qui agit en tant qu'adjuvant efficace en association avec l'acétaminophène. Elle améliorerait le taux d'absorption de l'acétaminophène et rehausserait son effet antalgique (qui réduit la douleur). Cet effet adjuvant a été observé dans plusieurs genres de douleurs y compris la douleur attribuable à la céphalée. Ce composé est indiqué dans le traitement des crises aiguës de migraine, pour le soulagement de la douleur légère à modérée associée à des causes telles que céphalée, odontalgie, myalgie et dysménorrhée ou consécutive à un trauma ou à une intervention chirurgicale, pour aider à rétablir temporairement la vigilance en cas de somnolence ou comme stimulant du système nerveux central et du système cardio-vasculaire.

Chapitre 4. Techniques d'extraction, d'enrichissement ou de prétraitement des échantillons aqueux

L'un des principaux avantages d'une méthode d'analyse multi-résidus est qu'elle offre une compréhension plus globale sur la présence, la répartition dans l'environnement et le devenir environnemental de différentes classes de composés (ex. les produits pharmaceutiques, les pesticides et les hormones). Par contre, la présence d'une multitude de composés aux propriétés physico-chimiques très variées nécessite de faire des compromis dans la sélection des conditions expérimentales, notamment au niveau de l'étape de prétraitement des échantillons. Parfois, les conditions optimales pour certains composés ne sont pas les meilleures pour l'ensemble du groupe de composés étudiés.

Les procédures analytiques existantes pour la quantification des produits pharmaceutiques dans des échantillons d'eau environnementale débutent souvent par une étape d'extraction et d'enrichissement des analytes d'intérêt. Cette étape s'avère souvent nécessaire puisque les analytes sont généralement présents à très faibles concentrations dans les échantillons. De plus, l'extraction et l'enrichissement des analytes permettent souvent de procéder à l'élimination de plusieurs composés interférents qui pourraient créer un effet de matrice au niveau de la source d'ionisation et ainsi nuire à la détection des analytes. Aussi, l'extraction et l'enrichissement des analytes permettent à ceux-ci de les séparer des particules solides ou autres matières en suspension sur lesquelles on pourrait observer de l'adsorption ou de l'absorption causant ainsi des problèmes au niveau de la détection. Dans les sections qui suivent, nous aborderons les techniques de prétraitement des échantillons les plus utilisées, soit l'extraction en phase solide [87-92], la microextraction en phase solide (SPME) [93] et la microextraction sur barreau (SBSE).

4.1. L'extraction en phase solide (SPE): principes et fonctionnement généraux

L'extraction en phase solide (SPE) est une technique de prétraitement d'échantillons utilisée dans de nombreux laboratoires d'analyse pour l'extraction des analytes d'intérêt contenus dans une matrice complexe [94]. Cette technique de prétraitement a pour objectif d'extraire et de concentrer les analytes d'intérêts qui sont dans l'échantillon, d'enlever les molécules interférentes provenant de la matrice de l'échantillon. La SPE permet donc l'extraction, la purification et l'enrichissement des analytes d'intérêt avant de procéder à leur analyse en vue de les quantifier. Elle peut s'effectuer manuellement de façon à ce que l'échantillon soit concentré et purifié de façon séparée pour ensuite être injecté dans un système d'analyse (ex. GC-MS ou LC-MS/MS) [95]. L'extraction en phase solide peut aussi être utilisée avec des cartouches conçues pour être couplées en ligne directement à un système tel que le LC-MS/MS [96, 97]. Effectuer une SPE en ligne offre divers avantages, entre autres, en minimisant les manipulations de l'échantillon, en automatisant les injections de l'échantillon, en utilisant un volume d'échantillon plus faible, en augmentant le nombre d'extractions possibles dans un même intervalle de temps, en utilisant moins de solvant organique et finalement en étant globalement moins coûteux à long terme [98]. Malgré tout, la grande majorité des prétraitements des contaminants émergents provenant des eaux environnementales sont effectués via une extraction en phase solide utilisant un système manuel appelé «off-line» et peu de méthodes d'analyses multi-résidus ont été rapporté dans la littérature en utilisant un système automatisé d'extraction en phase solide en ligne [99].

Contrairement à l'extraction liquide-liquide [100], l'extraction en phase solide permet d'améliorer significativement les taux de récupération en utilisant des interactions beaucoup plus sélectives pour la rétention des composés ciblés. Cette technique a aussi l'avantage d'utiliser beaucoup moins de solvant par rapport à une extraction liquide-liquide et elle est bien adaptée au prétraitement d'échantillons complexes tels que l'urine, l'eau, le sang, etc. Une fois que les propriétés physico-chimiques (pKa, Log P, etc.) des analyses d'intérêts sont prises en considération, que le pH de l'échantillon est ajusté pour favoriser la

forme (neutre ou ionique) désirée en solution et que le choix du type de cartouche est effectué selon le mécanisme de rétention nécessaire pour extraire les analytes, l'extraction en phase solide de l'échantillon peut débuter. L'extraction en phase solide est généralement composée des 5 étapes successives suivantes:

4.1.1. La 1^{ère} étape : échantillonnage et préparation de l'échantillon d'eau brut

Les échantillons d'eaux environnementales sont généralement collectés dans des bouteilles de verre ambrées préalablement lavées avec de l'eau pure de grade HPLC et une série de solvants organiques tel que l'acétone, le MeOH et le DCM [101]. Ces échantillons sont ensuite entreposés dans la noirceur à l'intérieur d'un réfrigérateur à 4 °C. Dès que possible, ces échantillons sont généralement filtrés avec des filtres ayant une porosité de 0,2 à 0,45 µm afin de minimiser la présence de particules organiques ou inorganiques en suspensions et qui pourraient provoquer une accumulation et un blocage dans la cartouche pendant l'étape de chargement [102-104]. Au besoin, des agents de préservation sont parfois ajoutés (ex : acide formique, HCl, acide sulfurique, méthanol, etc.) dans l'échantillon filtré [105]. Avant de débuter l'étape de conditionnement, il est souvent nécessaire d'ajuster le pH de l'échantillon. En effet, il s'agit d'un paramètre important qui détermine sous quelles formes chimiques (neutre ou ionique) les analytes d'intérêts seront présents et qui influencera directement leur capacité à interagir efficacement avec l'agent sorbant de la cartouche SPE pour y être retenus [104].

4.1.2. La 2^e étape : le conditionnement de la cartouche

Le conditionnement consiste à faire passer à travers la cartouche une série de liquides organiques (solvants) et/ou de solutions aqueuses appropriées, et ce, afin d'activer l'agent sorbant présent à l'intérieur de la cartouche via un effet de solvation. Le conditionnement permet du même coup d'éliminer les impuretés qui pourraient s'y retrouver.

4.1.3. La 3^e étape : le chargement de la cartouche

Le chargement consiste à faire percoler l'échantillon à travers la cartouche afin que les analytes d'intérêt puissent interagir avec l'agent sorbant et ainsi être retenus sur la cartouche. L'agent sorbant de la phase solide interagit donc avec les analytes via des interactions basées sur leur structure chimique (polarité, fonctionnalités, taille, caractère hydrophobe, etc.). Pendant cette étape, le débit de percolation doit être le plus stable possible et suffisamment faible afin de favoriser les interactions entre l'agent sorbant et les analytes d'intérêts pour maximiser leur rétention. Puisqu'une certaine quantité des composants de la matrice (molécules interférentes, saleté, etc.) peuvent aussi être retenus par l'agent sorbant, il est souvent nécessaire de poursuivre avec une étape de lavage afin de minimiser leur présence et leurs effets (effet de matrice).

4.1.4. La 4^e étape : le lavage de la cartouche

Une fois l'étape de chargement terminée, une étape de lavage est généralement utilisée afin d'éluer sélectivement un maximum de molécules interférentes qui auraient pu être retenus sur la cartouche selon les mêmes mécanismes de rétention. Il s'agit donc d'une étape de lavage cruciale qui pourra minimiser les effets de matrice potentiels que l'on observe parfois lors des analyses. Le lavage consiste donc à faire passer à travers la cartouche une série de liquides organiques (solvants) et/ou de solutions aqueuses appropriées, et ce, afin d'induire la désorption sélective de toutes les molécules interférentes ou analytes non ciblés ayant été retenus par l'agent sorbant. Pendant cette

étape, on essaie donc de faire éluer le maximum d'agents interférents sans affecter la rétention des analytes d'intérêt. Dans cette étape, il est important que la désorption des analytes d'intérêts soit la plus faible possible afin de ne pas affecter leur taux de récupération. L'idéal est d'être capable de laver les impuretés qui sont solubles dans l'eau (matrice d'eau usée), mais qui sont aussi solubles dans les solutions à faible teneur en solvants organiques sans éluer les composés d'intérêt. À titre d'exemple, lorsque l'extraction d'hormones est réalisée sur un support hydrophobe (ex. Strata C18 ou Strata X), des molécules interférentes apolaires ou de polarité faible à moyenne peuvent aussi être retenues sur la cartouche pendant l'étape de chargement. Afin d'éliminer ces interférents, il est possible de rincer la cartouche avec un volume d'eau ayant une faible proportion de solvant organique (ex. 5 à 20% MeOH). Ce type de lavage permettra de désorber plus efficacement les molécules interférentes ayant moins d'affinités avec l'agent sorbant, contrairement aux analytes d'intérêts qui sont généralement beaucoup plus hydrophobes que les interférents à éliminer.

4.1.5. La 5^e étape : l'élution de la cartouche

L'étape d'élution consiste à désorber et donc faire éluer les analytes d'intérêt en utilisant une série de solvants organiques ou de solutions aqueuses appropriées selon le cas. Le choix du solvant d'élution dépendra des propriétés chimiques des analytes d'intérêts qui sont en interaction avec l'agent sorbant. Les solvants d'élution les plus utilisés sont généralement l'acétate d'éthyle, l'acétone, le méthanol, le DCM, l'ammoniaque ou un mélange d'un ou de plusieurs de ceux-ci [106, 107]. Les analytes sont ainsi collectés au fur et à mesure de leur sortie de la cartouche en utilisant des tubes de centrifugeuse en verre à fond conique. La plupart du temps, les solutions d'élution sont majoritairement ou totalement organiques et relativement polaires afin de maximiser la désorption. Dans cette étape, il est important que la désorption des analytes d'intérêts soit totale afin de maximiser le taux de récupération.

Une fois l'étape d'élution terminée, l'éluat est généralement concentré par évaporation du solvant sous l'effet d'un léger jet d'azote. Si l'éluat doit être analysé par chromatographie gazeuse, il est possible d'évaporer l'éluat jusqu'à un volume donné puis d'injecter une fraction de ce volume d'éluat concentré pour fin d'analyse (cette étape peut causer l'évaporation et donc la perte de composés très volatiles). Par contre, si on prévoit utiliser un système de chromatographie liquide (LC) pour fin d'analyse ou d'effectuer un changement de solvant, il est alors nécessaire d'évaporer ce dernier à sec et de reconstituer le tout avec un autre solvant. Par exemple, pour une analyse en LC utilisant un gradient d'élution, il est souhaitable d'utiliser un solvant de reconstitution correspondant à la composition de la phase mobile au début du gradient d'élution.

4.2. Descriptions des principaux types de matériaux utilisés dans les cartouches SPE

4.2.1. Matériaux à base de silice avec groupement silanols résiduels ou greffés avec des groupements polaires

Il s'agit principalement de matériaux à base de silice greffée ou non par des fonctions polaires tels que des diols, des amines ou des nitriles. Le mécanisme d'extraction est donc similaire à celui d'une chromatographie sur colonne en phase normale et fera intervenir des groupements fonctionnels (ex. alcool, amine, nitrile, etc.) via différentes interactions polaires (ex. liaisons hydrogènes, interactions dipolaires, interactions π - π , interactions dipôle-dipôle).

4.2.2. Matériaux à base de silice greffés de chaînes alkyles

Dans la littérature, pour le prétraitement d'échantillons aqueux (ex. eau de surface, eau potable, eau usée, fluides biologiques), bon nombre des articles publiés font mention de l'utilisation d'un matériel à base de silice greffée d'une chaîne alkyle (ex. C8 ou C18). Il s'agit donc d'un matériel à caractère hydrophobe similaire à celui utilisé à l'intérieur des

colonnes analytiques de type phase inverse utilisées en chromatographie liquide. Sur ce type de matériel, l'eau a un faible pouvoir d'élution, ce qui permet la rétention des composés via des interactions hydrophobes générées par les chaînes alkyles de l'agent sorbant. Puisque la rétention sur ces supports est principalement liée au caractère hydrophobe des molécules, il est important de connaître les valeurs de leur Log P qui définit leur caractère hydrophobe et donc leur capacité à interagir plus ou moins fortement avec l'agent sorbant. En effet, il a déjà été démontré qu'il existe une relation linéaire entre les valeurs logarithmiques des coefficients de partage et les facteurs de rétention des composés ayant des propriétés hydrophobes. Les chaînes alkyles greffées confèrent donc une excellente efficacité d'extraction vis-à-vis des analytes non polaires ou peu polaires. Ce type de matériel résiste bien à la pression, ce qui lui donne la capacité de pouvoir être utilisé en ligne. Certains matériaux à base de silice greffée ont parfois des groupements silanol résiduels afin d'avoir une certaine sélectivité pour des composés plus polaire ayant des propriétés chimiques leur permettant d'interagir avec ces groupements. Néanmoins, la rétention sur ces matériaux demeure tout de même basée majoritairement sur des interactions hydrophobes avec les chaînes alkyles greffées.

4.2.3. Matériaux de carbone

Le charbon actif a été le premier adsorbant utilisé pour l'extraction de solutés polaires, mais des phénomènes d'adsorption irréversible rendent son utilisation peu intéressante. Beaucoup d'études portant sur l'extraction de solutés polaires de l'eau ont été basées sur l'utilisation du «*graphitized carbon black*». Il s'agit d'un support de carbone de structure homogène, de faible surface spécifique (environ 100 m²/g) qui ne résiste pas très bien à la pression. Parmi les cartouches de SPE les plus utilisées de cette catégorie, on retrouve les cartouches Carbo-pack B (Supelco) et Carbograph (Alltech). Ce matériel a une structure aromatique qui est donc davantage sélective vis-à-vis des analytes aromatiques.

4.2.4. Matériaux à base d'échangeurs d'ions

Si les analytes d'intérêts peuvent être présents sous formes ionisées dans l'échantillon, les matériaux à base d'échangeur d'ions peuvent offrir une rétention efficace. Contrairement aux cartouches qui fonctionnent uniquement en phase normale ou de type phase inverse, les échangeurs d'ions sont des supports de silice ou de polymères greffés par des groupements chargés de types acides/bases fortes ou faibles (ex. COO^- , SO_3^- , NR_3^+ et NHR_2^+). Pour une rétention efficace des analytes d'intérêts sous leur forme ionisée, il faut adapter le pH de l'échantillon afin que ceux-ci soient ionisés sous la bonne forme (positivement ou négativement) et de façon complète. Cela permettra leur interaction avec l'échangeur d'ions qui, lui, a une charge de signe opposé. Lorsqu'on utilise ce type de cartouche, il est donc important de connaître le pKa des composés à l'étude afin de s'assurer qu'ils pourront interagir efficacement avec l'agent sorbant. Dans certains cas, il peut s'avérer utile d'effectuer un prétraitement de l'échantillon (ex. complexation, précipitation des ions interférents, etc.) afin de minimiser la présence d'autres ions (ex. sel) ou minéraux présents de façon naturelle et qui pourraient être en compétition pour interagir avec les sites actifs limités de l'échangeur d'ions.

4.2.5. Matériaux à base de polymères

Il s'agit principalement de phases de polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB) capables de développer des interactions hydrophobes, mais aussi des interactions de type π - π . Ces matériaux à base de polymères ont de grandes surfaces spécifiques et la rétention des analytes dépend des interactions hydrophobes et des interactions électroniques de type π - π puisque ce type de phase solide contient aussi des noyaux aromatiques. Il est généralement reconnu que la rétention sur des cartouches à base de polymères est plusieurs dizaines de fois supérieures à celle obtenue sur une cartouche à base de silice greffée de chaîne alkyle C18. Il existe aussi des cartouches à base de polymères fonctionnalisés par des groupements polaires (ex. fonctionnalisée avec un échangeur de cations fort). Cette fonctionnalisation permet d'obtenir des interactions encore plus sélectives et efficaces pour les composés pouvant aussi être ionisés. Les cartouches à base de polymères sont de plus en

plus utilisées pour l'extraction d'une vaste gamme de composés non polaires, peu polaires, de polarité moyenne ou relativement élevée. Voici quelques exemples de cartouches faisant partie de cette catégorie: LiChrolut EN, Isolut ENV+, Oasis HLB et Oasis MCX.

4.2.6. Matériaux à base de silice ou de polymère greffé de fonctionnalités au mode de rétention mixte

Les contaminants émergents qui ont des propriétés hydrophobes peuvent généralement être extraits facilement par des cartouches de type phase inverse conventionnelle (ex: base de silice greffée de chaînes alkyles C18). Malheureusement, il existe aussi une multitude de contaminants émergents qui ont une polarité moyenne ou élevée et qui ne n'ont pas des propriétés chimiques compatibles pour une extraction en phase inverse conventionnelle. Pour solutionner ce problème et pour augmenter la sélectivité et l'efficacité de la rétention de ces molécules, certains agents sorbant de mode mixte ont été produits afin de pouvoir développer, par exemple, une combinaison d'interactions électrostatiques provenant de fonctions ionisées de type acide fort (SO_3^-) ou base forte (NR_3^+) et d'interactions hydrophobes provenant de chaînes alkyles greffés sur le même support (ex. Strata Screen C). Dans cet exemple, pendant l'étape de chargement de la SPE, les analytes d'intérêts peuvent être retenus à la fois par des interactions hydrophobes (provenant de la chaîne alkyle C8) et électrostatiques (provenant de l'échangeur de cations forts). De façon similaire, des matériaux à base de polymères fonctionnalisés par des groupements acides forts ou bases fortes ont aussi été fabriqués (ex. Strata X-C ou Strata X-A). Les mécanismes de rétention en jeu sont similaires et exploitent aussi des interactions hydrophobes et électrostatiques. Il est à noter que les matériaux à base de polymère offrent aussi une meilleure résistance à la variation du pH que les matériaux à base de silice.

4.3. Modèles de cartouches les plus utilisés dans la littérature pour le développement de méthode multi-résidus utilisant une extraction en phase solide

L'analyse simultanée d'un groupe varié de contaminants émergents nécessite souvent de faire un compromis au niveau des différents paramètres afin d'obtenir une bonne performance globale pour l'ensemble des composés à l'étude. En faisant des compromis, cela signifie que l'efficacité et la performance des SPE ne seront pas optimales pour chacun des analytes considérés de façon individuelle. Cette situation représente donc un défi de taille pour les chercheurs qui essaient de plus en plus de développer des méthodes d'analyse multi-résidus par extraction en phase solide afin d'inclure le plus de composés possible dans une seule méthode d'extraction unique et relativement simple.

Néanmoins, dans la littérature, on rapporte quelques méthodes d'analyse multi-résidus assez efficaces avec divers types de cartouches. Dans ces méthodes, les modèles de cartouche les plus utilisés sont les suivantes : Oasis HLB, C-18, Lichrolut ENV+ et Oasis MCX [99, 108]. Concernant la cartouche Oasis HLB, celle-ci est composée de divinylbenzene (lipophile) et d'un polymère à base de N-vinylpyrrolidone (hydrophile). Grâce à sa composition chimique mixte, cette cartouche est capable d'extraire les composés acides, basiques et neutres. Elle peut s'utiliser dans une large gamme de pH. Dans la littérature, la cartouche Oasis HLB est souvent utilisée pour le prétraitement d'échantillons d'eaux de surface ou d'eaux usées lors du développement de méthodes multi-résidus. En effet, plusieurs auteurs ont démontré son efficacité pour l'extraction de produits pharmaceutiques acides, neutres ou basiques, de biocides, de produits de soins personnels, d'analgésiques, d'antibiotiques, d'anti-inflammatoires, d'antidépresseurs, d'agents de préservation, de pesticides et de perturbateurs endocriniens [108-112].

La cartouche à base de silice greffée de chaîne alkyle C18 en est une autre qui est largement utilisée pour l'extraction des composés apolaires ou peu polaires. Celle-ci est composée d'un agent adsorbant non-polaire de type phase inverse. Dépendamment des composés à extraire, l'utilisation de cette cartouche nécessite généralement un ajustement du pH de l'échantillon afin de s'assurer que les analytes d'intérêt soient sous forme neutre

(non ionisée). Par exemple, l'extraction de composés acides nécessitera une acidification de l'échantillon afin de s'assurer que les analytes d'intérêt soient présents sous leur forme neutre. Sous leur forme neutre, ceux-ci sont davantage retenus sur l'agent sorbant hydrophobe (chaîne alkyle C18) que s'ils étaient sous leur forme ionique. À l'inverse, la présence de composés neutres ou basiques nécessitera, respectivement, un ajustement du pH à une valeur neutre ou basique afin que les espèces soient sous leur forme neutre (non ionisée). À titre d'exemple, Reddersen et Heberer [113] ont développé une méthode d'analyse multi-résidus avec une cartouche RP-C18 afin de pouvoir mesurer une gamme variée de produits pharmaceutiques et d'autres contaminants émergents polaires dans les eaux usées, de surface et potables. Dans leur développement de méthode, ceux-ci ont utilisé une dérivation chimique afin de pouvoir analyser les molécules par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse.

La cartouche Lichrolut ENV+ est pour sa part recommandée pour l'extraction des composés organiques polaires à des pH plus faibles (pH acide), bien qu'elle soit aussi efficace pour plusieurs composés neutres à un pH de 7 grâce à ses interactions hydrophobes avec les analytes d'intérêt [114].

La cartouche Oasis MCX est la cartouche de mode mixte à base de copolymère la plus utilisée dans la littérature pour l'extraction des contaminants émergents sous forme cationique. Elle est généralement utilisée pour extraire des composés acides, neutres et basiques. Ainsi, en utilisant ce type de cartouche, les analytes aux propriétés basiques sont retenus grâce aux interactions avec l'échangeur de cations tandis que les composés acides et neutres sont retenus grâce aux propriétés hydrophobes de type «phase inverse» de la cartouche. Il est à noter que l'élution des composés retenus sur cette cartouche nécessite souvent l'utilisation d'un mélange méthanol-ammoniaque tandis qu'avec les autres cartouches qui n'ont pas d'échangeur d'ions, seul le méthanol est nécessaire.

Parmi les autres cartouches utilisées, en moindre proportion, on retrouve la cartouche Strata X fabriquée par la compagnie Phenomenex. Celle-ci peut aussi, comme la cartouche Oasis HLB, retenir une gamme assez large de composés grâce à ses interactions hydrophiles et hydrophobes. Néanmoins, la cartouche Oasis HLB est celle qui est la plus

utilisée pour l'extraction de groupes multiples d'analytes puisque son utilisation ne nécessite pas l'ajustement du pH de l'échantillon.

4.3.1. Utilisation de cartouches en série

L'extraction en phase solide peut être réalisée avec une seule cartouche ou via l'utilisation de plusieurs cartouches en série (ex : une première cartouche d'extraction utilisant un échangeur d'ion suivi d'une 2^e cartouche utilisant une phase inverse). L'extraction en phase solide est une technique qui, au fil du temps, a remplacé une majorité de méthodes classiques d'extraction liquide-liquide et qui a permis, entre autres, de minimiser l'utilisation d'un large volume de solvant organique. Lors d'une SPE, le pH de l'échantillon aqueux est généralement ajusté à une valeur précise afin de favoriser la forme neutre (non ionique et non dissociée) ou la forme dissociée (protonée ou déprotonée) des analytes d'intérêt selon le mécanisme de rétention choisi. L'échantillon est ensuite acheminé à travers la cartouche SPE qui contient un matériel exerçant une rétention sélective vis-à-vis certains composés, toujours selon le mécanisme de rétention choisi. Les mécanismes de rétention, selon le type de cartouche choisie, sont basés sur différents types d'interactions entre le matériel sorbant et les analytes à extraire. Il s'agit généralement d'interactions de type dipôle-dipôle, de type ion-dipôle, d'interactions hydrophobiques ou d'interactions électrostatiques. En ce qui a trait aux méthodes utilisant plusieurs cartouches SPE en série, celles-ci peuvent utiliser le même agent sorbant ou un agent sorbant différent. Ces méthodes peuvent être réalisées avec deux cartouches ou plus en série de façon consécutive ou de façon séparée. Lorsque des cartouches sont utilisées en série de façon consécutive, l'éluat de la première cartouche entre directement dans la cartouche suivante. Lorsqu'elles sont utilisées de façon séparée, ces méthodes impliquent des étapes d'extraction indépendante l'une de l'autre. Ainsi, en utilisant des cartouches en série de façon consécutive, il est possible de prétraiter une seule fois l'échantillon avant son passage à travers la série de cartouches. Par contre, l'utilisation de plusieurs cartouches en série de façon séparée offre la possibilité d'effectuer un prétraitement spécifique de l'échantillon (ex : pH) entre chaque cartouche, selon la nature des composés que l'on souhaite inclure dans chacun des sous-groupes. L'avantage d'utiliser une méthode d'extraction via plusieurs cartouches SPE en série (consécutive ou non) est que les conditions d'extraction sont plus

efficaces puisqu'elles reposent sur des interactions variées qui englobent plus spécifiquement les propriétés chimiques de chaque analyte d'intérêt.

4.4. Microextraction en phase solide (SPME)

Cette méthode est basée sur un processus d'équilibre rapide et qui ne nécessite pas de solvants organiques. Elle utilise un court support de silice enrobée d'une phase stationnaire polymérique adsorbante ayant une certaine épaisseur. Ce support est ensuite placé à l'extrémité d'une tige insérée dans une aiguille se trouvant sur le bout d'une seringue. Pour effectuer l'extraction des composés, l'aiguille de la seringue percera le septum du flacon contenant l'échantillon et on fera alors sortir la tige de l'aiguille afin que le support enrobé du polymère adsorbant soit placé au-dessus de l'échantillon (dans l'espace gazeux) ou immergé directement dans l'échantillon. Le processus d'extraction est achevé lorsqu'il y a atteinte d'un équilibre entre l'agent adsorbant et l'échantillon. Une fois l'extraction terminée, le support est rétracté à l'intérieur de l'aiguille de la seringue, celle-ci est retirée du flacon pour ensuite être introduite, par exemple, dans un chromatographe en phase gazeuse. Les analytes d'intérêts qui ont été extraits seront alors désorbés et vaporisés thermiquement, puis séparés et quantifiés par chromatographie. Par exemple, beaucoup de produits de soins personnels sont suffisamment volatils pour être extraits, désorbés et analysés par un système SPME-GC [115-117].

Cette méthode ne permet pas d'extraire la totalité des analytes d'intérêts présents dans un échantillon, mais plutôt une fraction de ceux-ci qui ont participé à l'atteinte d'un équilibre avec la capacité adsorbante de l'enrobage sur le support. Il existe donc plusieurs paramètres qui influencent la quantité d'analytes pouvant être extraits telles que la quantité et le type de polymère enrobant le support. Parmi les différents agents adsorbants d'enrobage existant, mentionnons les suivantes : polydiméthylsiloxane (PDMS), DVB, polyacrylate, Carboxen et Carbowax. Il existe aussi des agents adsorbants mixtes composés de plusieurs adsorbants différents tels que PDMS-DVB et Carbowax-DVB. La technique d'extraction SPME est polyvalente et peut être utile pour l'analyse des échantillons environnementaux. On rapporte ainsi de plus en plus l'extraction d'une gamme très variée

de composés tels que les alcanes, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les phénols, les pesticides, les produits pharmaceutiques, les produits de soins personnels, etc.

Lorsqu'on compare cette technique à la SPE conventionnelle, on remarque certains avantages et certaines limitations. Au niveau des avantages, la SPME est une technique simple et rapide. Elle nécessite un plus faible volume d'échantillon et ne nécessite pas de solvant organique. De plus, c'est une technique qui peut être facilement automatisée et couplée, par exemple, à un système d'analyse par GC-MS. Au niveau des limitations par rapport à la SPE, mentionnons que la technique SPME dispose d'un choix d'agents sorbant commerciaux très limités et qui ne permet pas l'extraction d'un nombre aussi élevé de composés qu'en SPE. De plus, il arrive souvent que la capacité d'extraction de l'agent sorbant de la technique SPME soit insuffisante pour obtenir un bon taux de récupération des analytes d'intérêts [107]. Cette dernière limitation a donc aussi un impact négatif sur les limites de détection que l'on peut obtenir avec une telle technique. Dans ces cas où la capacité d'extraction n'est pas assez performante, on obtient donc des LOD plus élevés et un facteur de concentration beaucoup plus faible par rapport à la SPE.

Le couplage de la SPME à la chromatographie liquide est plus compliqué parce que la désorption thermique n'est pas efficace pour plusieurs composés plus polaires et de volatilité moindre [114, 118]. En effet, dans un GC, les analytes volatiles sont désorbés thermiquement à l'intérieur de l'injecteur à haute température. À l'inverse, afin d'effectuer un couplage SPME-LC, il est nécessaire de procéder à une désorption des analytes avec un solvant afin de s'assurer d'une désorption totale. Dans ce genre de situation, il est nécessaire de désorber les analytes avec un minimum de solvant afin d'éviter une diminution de la performance chromatographique de l'appareil. Ainsi, l'efficacité d'une microextraction en phase solide (SPME) dépendra de plusieurs facteurs tels que le pH de l'échantillon, la nature et la quantité de polymère enrobant le support à base de silice, la température d'extraction, le temps d'extraction, la force ionique de la solution, etc. L'optimisation de toutes ces variables est donc importante afin d'obtenir une extraction rapide, efficace et sensible pour une majorité d'analytes [119].

4.5. Microextraction sur barreau (SBSE)

La microextraction sur barreau ou «stir bare sorptive extraction» est aussi une nouvelle technique utilisée pour l'extraction des contaminants émergents provenant de diverses matrices, notamment des eaux environnementales [120]. Il s'agit donc d'une technique d'extraction utilisant un barreau d'environ 5 à 30 mm de long enrobé d'une certaine épaisseur d'un monomère ou d'un polymère fabriqué en laboratoire ou acheté commercialement (ex : PDMS, PolyDiMéthylSiloxane). Ce barreau est plongé, par exemple, dans l'échantillon d'eau environnementale contenant divers analytes d'intérêts et il est agité en utilisant une plaque agitatrice magnétique. Les composés de faible polarité, qui ont plus d'affinité pour l'agent sorbant polymérique que pour l'eau, vont donc se concentrer sur le barreau de façon préférentielle. Comme la SPME, la technique SBSE est aussi basée sur l'équilibre de partage des analytes entre l'échantillon d'eau et l'agent sorbant qui enrobe le barreau. Ainsi, après un certain temps d'extraction donné, le barreau est retiré de l'échantillon et mis en contact avec un bout de papier propre afin d'enlever les petites gouttelettes d'eau superficielle présentes sur le barreau. L'étape de désorption est ensuite effectuée par un désorbeur thermique (appelé TDU ou «Thermal Desorption Unit») monté en série avec un injecteur à programmation de température (appelé CIS ou «Cooled Injection System»). Pour réaliser la désorption, le barreau est placé dans un tube étanche à l'air puis introduit dans le TDU. Celui-ci est généralement maintenu à une température d'environ 50°C tandis que le CIS, lui, est refroidi à -50°C avec de l'azote liquide. Lorsque la température du TDU est augmentée jusqu'à quelques centaines de degrés Celsius pour quelques minutes, les analytes présents sur le barreau sont ainsi désorbés et condensés un peu plus loin dans la partie du CIS. Les analytes sont ensuite automatiquement injectés et vaporisés dans le GC-MS par une élévation de température rapide. Il est aussi possible d'effectuer la désorption des analytes en utilisant un solvant organique (ex : MeOH). Une fois l'extraction terminée, le barreau est alors retiré de l'échantillon d'eau environnementale et plongé dans un solvant organique afin d'y être agité pendant un certain temps. Les analytes sont alors solubilisés par le solvant organique. Une fois la désorption terminée, le volume de solvant organique utilisé peut être concentré par évaporation sous l'effet d'un léger jet d'azote. Si les analytes doivent être analysés par chromatographie gazeuse, il est possible d'évaporer le solvant d'extraction jusqu'à un volume donné puis

d'injecter une fraction du volume concentré restant pour fin d'analyse. Par contre, si on prévoit utiliser un système de chromatographie liquide (LC) pour fin d'analyse ou pour effectuer un changement de solvant, il est alors nécessaire d'évaporer le solvant d'extraction à sec et de reconstituer les analytes avec un autre solvant. Pour une analyse en LC utilisant un gradient d'élution, il est souhaitable d'utiliser un solvant de reconstitution correspondant à la composition de la phase mobile au début du gradient d'élution. Contrairement à la technique SPME, le barreau utilisé par la technique SBSE possède une quantité d'agents sorbants beaucoup plus importante. Ainsi, il est souvent possible d'extraire une plus grande quantité d'analytes et d'obtenir une meilleure sensibilité.

Chapitre 5. Instruments d'analyse utilisés couramment dans la littérature pour quantifier les contaminants émergents

Au fil du temps, les avancées technologiques ont permis le développement d'instruments analytiques toujours plus performants et sensibles pour la détection et la quantification des contaminants présents dans l'environnement. Néanmoins, il a fallu attendre le début des années 1990 pour que la détection des composés pharmaceutiques puisse être effectuée à l'échelle du $\mu\text{g L}^{-1}$ et du ng L^{-1} [121]. De nos jours, les développements technologiques n'ont cessé de croître et de plus en plus de contaminants émergents sont découverts dans l'environnement à des concentrations du même ordre [122]. Tel que mentionné précédemment, les contaminants émergents sont des composés très variés dont la présence a été signalée dans les eaux naturelles, dans les eaux usées, dans les sédiments, dans les boues, etc. La quantification de ces contaminants de façon précise dans les échantillons environnementaux représente donc un grand défi d'un point de vue analytique, notamment en raison de la complexité de la matrice dans laquelle ils se retrouvent et aussi en raison de leur faible concentration. Afin de relever ce défi, des techniques analytiques appropriées ont été développées, notamment en chromatographie gazeuse et liquide, en combinaison avec des méthodes d'extraction, de dérivatisation et de nettoyages modernes. En effet, plusieurs avancées ont été faites dans ces diverses méthodes de traitement des échantillons [123-127].

Dans les sections qui suivent, nous allons décrire le principal instrument d'analyse utilisé couramment dans la littérature afin de quantifier les contaminants émergents présents dans les eaux environnementales, soit le LC-MS/MS.

5.1. Analyse par LC-MS/MS

Pour séparer les différentes molécules à l'étude, la chromatographie liquide utilise une phase mobile liquide et une phase stationnaire sur laquelle se retrouve, dans le cas de la colonne C-18, des chaînes alkyles greffées et qui constitue ainsi une sorte de phase stationnaire pseudo-liquide. Ce type de chromatographie en phase inverse permet de séparer les composés selon leur polarité. La phase mobile est acheminée à travers la colonne analytique avec un débit qui doit être stable et reproductible dans le temps. Afin d'y parvenir, un système de pompes est utilisé pour soutirer les différentes proportions de solvants nécessaires pour l'élution, pour les mélanger et pour les acheminer dans la colonne à débit constant. De façon générale, l'élution débute avec une phase mobile composée majoritairement d'eau et d'une faible proportion de solvant organique tel que le MeOH ou l'acétonitrile. Ainsi, les molécules ayant une polarité élevée éluent plus rapidement, car elles ont moins d'affinités pour interagir avec la phase stationnaire hydrophobe. L'augmentation graduelle de la teneur en solvant organique dans la phase mobile contribue à faire éluer les composés de moins en moins polaires ou qui ont un caractère hydrophobe de plus en plus fort.

Les deux sources d'ionisation les plus utilisées en LC-MS/MS sont l'ionisation par électro-nébulisation (ESI) et l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI). Ces deux techniques d'ionisation sont très utilisées puisqu'elles sont relativement douces vis-à-vis des analytes. L'ESI est plus adaptée pour les composés polaires ou de polarité moyenne tandis que l'APCI est plus adaptée pour les composés de polarité moyenne ou faible. Un des problèmes souvent rencontrés lors du développement de méthodes analytiques utilisant une source ESI est la présence d'effets de matrice causant la suppression ou l'enrichissement des signaux obtenus pour les analytes et pouvant ainsi fausser les résultats [128]. Une des façons généralement utilisées pour compenser cet effet de matrice est l'utilisation de standards internes marqués d'isotopes. Dans la littérature, ces standards internes sont couramment utilisés par dilution isotopique afin d'obtenir des courbes de calibration par ajouts dosés dont la valeur de la pente et de l'ordonnée à l'origine prend en considération les effets provenant de la matrice de l'échantillon. Ceux-ci sont donc injectés le plus tôt possible dans la méthode utilisée afin qu'ils puissent subir les mêmes

changements ou effets que leurs analogues non marqués. Le rapport des signaux des analogues non marqués et marqués isotopiquement demeure donc toujours égal tout au long de la méthode et de l'analyse, peu importe les effets de matrice présents.

Dans la dernière décennie, les méthodes d'analyses multi-résidus utilisant un LC-MS/MS comme instrument d'analyse sont devenus de plus en plus populaire par rapport à l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse. Parmi les diverses raisons menant à ce constat, mentionnons qu'une forte proportion des contaminants émergents sont généralement polaires, peu volatiles et thermosensibles. De plus, lors du développement d'une méthode d'analyse multi-résidus, les différentes classes de contaminants émergents ont souvent des propriétés physico-chimiques très variées. Ainsi, ces aspects forcent souvent les chercheurs, qui désirent utiliser la chromatographie en phase gazeuse, à multiplier les étapes de prétraitements des échantillons et de dérivatisation des analytes, à faire de nombreux compromis menant à de longues manipulations compliquées et fastidieuses en laboratoire. Pour contourner ce problème et pour faciliter l'analyse simultanée d'une multitude de composés aux propriétés physico-chimiques variées, la LC-MS/MS est devenue la technique la plus utilisée pour la détection et la quantification de contaminants présents dans l'environnement. Lorsqu'utilisée en mode SRM ou «selected reaction monitoring», celle-ci permet d'utiliser une transition spécifique pour confirmer et quantifier la présence de chaque analyte d'intérêt dans les échantillons d'eaux environnementales à une concentration de l'ordre du ng L^{-1} [4, 129, 130]. En effet, l'utilisation d'un LC-MS/MS permet la séparation et la détection des composés qui ont la même masse moléculaire (précurseurs), mais donnant lieu à des ions fragments différents, et ce, même s'ils co-éluent. La détection en mode MS/MS est donc une méthode de choix pour augmenter la sensibilité et la sélectivité des analyses dans des matrices complexes.

Au niveau des colonnes chromatographiques utilisées, la colonne à phase inverse est presque toujours utilisée pour les analyses multi-résidus de contaminants émergents présents dans des échantillons d'eau. Les phases mobiles utilisées sont principalement composées d'un mixte méthanol-eau, d'acétonitrile-eau ou d'un mixte méthanol-acétonitrile-eau. À l'intérieur de ces phases mobiles, on ajoute généralement un additif chimique tel un composé acide ou une solution tampon afin d'améliorer l'allure des pics

chromatographiques, de minimiser le temps de rétention et d'augmenter la sensibilité de l'analyse. Parmi les additifs les plus utilisés, on retrouve l'acétate d'ammonium, le formate d'ammonium, le tri-n-butylamine (TrBA), l'acide formique et l'acide acétique. La concentration de ces sels d'ammonium comme additif à la phase mobile varie généralement entre 2 et 20 mM puisqu'à des concentrations plus élevées, il a été démontré que cela pouvait réduire l'intensité du signal obtenu [46].

Chapitre 6. Introduction à l'appareil LDTD-APCI couplé à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)

Que ce soit pour le développement de nouveaux médicaments pour le traitement de certaines maladies (cancer, obésité, etc.), pour l'analyse de drogue dans le sang, dans le plasma, dans l'urine ou pour l'analyse de pesticides à l'état de trace dans des échantillons environnementaux, la nécessité d'en arriver à un volume d'échantillonnage et d'analyse plus élevé dans un délai plus rapide a toujours été un sujet d'actualité important. Plusieurs types d'entreprises (pharmaceutiques, environnementales, agroalimentaires, etc.) essaient d'augmenter leur productivité afin d'en arriver à des volumes d'analyses à la hausse avec une fréquence accrue. Par contre, les techniques d'analyse usuelles, notamment la chromatographie en phase liquide et la chromatographie en phase gazeuse, impliquent certaines contraintes qui limitent grandement l'atteinte des objectifs de productivité accrue mentionnés précédemment. Par exemple, le temps de préparation des échantillons, le temps d'optimisation du système chromatographie, le risque de contamination croisée et de «sample carryover» (qui affectent la précision et la répétabilité des résultats), le coût d'entretien élevé ainsi que les temps d'analyse élevés sont parmi les contraintes les plus importantes rencontrées un jour ou l'autre par les utilisateurs des techniques chromatographiques usuelles (LC-MS, GC-MS, etc.).

C'est dans cette optique qu'en 2006, la compagnie Phytronix technologies inc. [131] a développé et commercialisé la première source d'ionisation couplée à un spectromètre de masse pouvant faire l'analyse complète d'un échantillon en moins de 10 secondes. Cette nouvelle technologie s'appelle «Laser Diode Thermal Desorption» ou LDTD. Dans cette technique d'analyse, une désorption thermique induite par un laser (LDTD) couplée à l'ionisation chimique sous pression atmosphérique (APCI) est reliée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). De façon globale, les analytes sont désorbés indirectement par la chaleur générée par le laser, ionisés en phase gazeuse par APCI et détectés par un MS/MS. Il n'y a donc pas de séparation chromatographique et la préparation de l'échantillon avant l'analyse est minimale selon la complexité de la matrice contenant les

analytes. Le LDTD a donc été développé dans le but d'offrir des performances similaires à un LC-MS/MS, mais sans les mêmes contraintes. Nous allons donc voir en plus amples détails les différentes parties du LDTD ainsi que les processus impliqués lors d'une analyse.

Cet appareil est formé de trois parties principales, soit un échantillonneur, une source de désorption thermique par diode laser et une source d'ionisation APCI. L'interface LDTD-APCI couple donc la désorption thermique induite par une diode laser à l'ionisation chimique sous pression atmosphérique pour introduire directement les analytes ionisés dans le MS. Contrairement à un LC-APCI usuel, le LDTD-APCI offre la possibilité d'analyser des composés thermosensibles qui sont moins volatils. Nous allons donc voir chacune de ces composantes ainsi que leur mode de fonctionnement respectif.

6.1. Principes de fonctionnement général d'un LDTD-APCI couplé à la spectrométrie de masse [131]

6.1.1. Échantillonneur et préparation de l'échantillon

La préparation des échantillons s'effectue à l'aide d'une plaque analytique rectangulaire fabriquée en polypropylène dans laquelle est insérée une feuille en acier inoxydable où se retrouvent 96 puits distincts composés du même alliage métallique [131, 132]. En introduisant un faible volume de solvant (2 — 10 μL) contenant les analytes solubilisés dans les puits de la plaque analytique et en évaporant doucement ce dernier à faible température (typiquement 30 °C), une mince couche de nanocristal d'analytes est formée. Les puits sont constitués d'une mince couche d'acier inoxydable ayant la capacité d'absorber et de transmettre rapidement l'énergie thermique reçue via une irradiation laser. De plus, la géométrie des puits de la plaque analytique a été conçue de manière à concentrer les analytes, qui cristallisent lors de l'évaporation du solvant, dans la zone centrale du puits. Il est à noter que cette zone centrale est la zone optimale du puits qui se fait irradier par le faisceau laser et qui transmet ensuite l'énergie thermique maximale aux analytes de façon ultrarapide (≤ 10 sec.).

Une fois les échantillons déposés et cristallisés dans les différents puits de la plaque analytique, un code-barre unique est apposé sur le côté de la plaque sous forme d'étiquette autocollante et celle-ci est déposée dans l'échantillonneur du LDTD [131]. Il est à noter que l'échantillonneur peut accepter jusqu'à 10 plaques à la fois, chacune ayant 96 puits, pour un total de 960 analyses individuelles possibles sans aucun «carryover».

À l'intérieur du LDTD, le code-barre de la première plaque analytique est scanné et enregistré dans le logiciel. Cette plaque analytique est ensuite envoyée dans une cage mobile pouvant se déplacer de façon très précise sur les axes X – Y afin de positionner l'arrière du puits à analyser (ex: puits A-1) vis-à-vis du faisceau laser incident. Un tube de transfert pour les analytes vaporisés est inséré contre le puits à analyser de façon à sceller celui-ci pour prévenir toute perte d'échantillon gazeux. La diode laser infrarouge est ensuite mise en marche et contrôlée selon divers paramètres [131, 132] : puissance maximale de l'intensité laser, taux d'élévation de la puissance laser (%/sec.) et temps de maintien de la puissance du laser à chaque niveau de la rampe (sec.). Plus l'intensité laser est élevée, sur une échelle de 0% à 100%, plus la température de désorption sera élevée et plus l'énergie thermique transmise aux analytes sera élevée. Le faisceau laser est ainsi focalisé sur l'arrière du puits qui emmagasine l'énergie sous forme de chaleur. L'énergie thermique est donc transférée aux analytes cristallisés qui se trouvent de l'autre côté de la paroi du puits qui est irradié. Pendant ce transfert d'énergie, il n'y a aucune interaction directe entre les photons infrarouges du laser et les analytes. La possibilité d'effectuer une programmation de l'intensité laser et de sa durée dans l'échelle de temps de l'analyse signifie qu'il est théoriquement possible de permettre le passage sélectif des différents analytes en phase gazeuse, selon leur ordre décroissant de volatilité. Par contre, ce phénomène de désorption sélective s'apparente donc à une séparation des constituants, mais n'est pas un paramètre qui peut reproduire l'efficacité d'une séparation chromatographique d'un LC. Au contraire, le LDTD exploite justement la technologie de la spectrométrie de masse comme analyseur puisqu'il n'y a pas de séparation efficace et optimale des constituants lors de leur envoi vers l'analyseur. Puisque le MS permet l'analyse de constituants mêmes s'ils ne sont pas séparés, il s'agit de l'analyseur de choix pour l'utilisation d'un LDTD. Néanmoins, en optimisant l'intensité laser et la rampe d'élévation de celle-ci, on peut parfois éviter la désorption de contaminants plus polaires ou qui auraient une volatilité moindre, ce qui a

pour effet de «purifier» en quelque sorte les molécules envoyées dans la source d'ionisation via une sélectivité accrue. En procédant de cette façon, on peut aussi favoriser une désorption maximale des analytes d'intérêts pour l'analyse.

6.1.2. Optimisation des paramètres LDTD

La présence de contaminants, d'une matrice complexe et de propriétés physico-chimiques différentes des différents analytes justifie la nécessité d'optimiser certains paramètres lors du développement d'une méthode analytique en LDTD. L'intensité laser et de la rampe d'élévation de la température qui sont les deux paramètres de bases afin d'optimiser la désorption des analytes d'intérêts et ainsi d'augmenter la sensibilité de l'analyse. Ces deux paramètres peuvent contribuer de façon positive à la purification légère, mais non négligeable, de l'échantillon pendant la désorption laser.

Pour continuer, le choix du solvant de déposition, du volume de déposition et le débit du gaz vecteur sont aussi des paramètres pouvant être optimisés. Il a été démontré que le choix de ce solvant a aussi un impact sur l'intensité du signal obtenu [132]. En effet, l'utilisation de solvants différents pour la déposition de l'analyte a un impact sur la formation de celui-ci sous forme de cristal. De façon similaire à une recristallisation, le choix du solvant peut favoriser la formation d'un réseau cristallin qui pourra ou non diffuser l'énergie thermique de façon uniforme et efficace pour une meilleure vaporisation.

Le volume de déposition va influencer la quantité d'analyte qui se retrouve dans les puits de la plaque d'échantillonnage. Le volume de déposition utilisé peut donc affecter l'efficacité de l'ionisation APCI via suppression d'ions par compétition d'affinité pour les protons ou en trappant les analytes avec des contaminants non volatils contenus dans la matrice. Conséquemment, c'est l'intensité du signal qui en sera affecté. De façon générale, si on augmente le volume de déposition, l'intensité du signal des analytes d'intérêts augmente en fonction du volume de déposition lorsque l'échantillon ne contient pas de matrice. Par contre, si l'échantillon contient une matrice (eaux usées, plasma humain, etc.), l'intensité du signal des analytes va augmenter en fonction du volume de déposition jusqu'à un certain point pour ensuite diminuer rapidement. Ce phénomène est commun lors d'une

analyse LDTD [132] et témoigne qu'à partir d'une certaine quantité de matrice présente dans le puits d'analyse, les contaminants de la matrice compétitionnent davantage dans le processus d'ionisation et empêchent l'ionisation efficace des analyses. Finalement, le débit du gaz vecteur peut influencer le rapport signal/bruit (S/B) obtenu pour les différents analytes. En effet, Badjagbo et al. [133] ont démontré l'influence du débit que le gaz vecteur peut avoir sur l'efficacité d'ionisation des analytes. Leurs travaux suggèrent que l'intensité du signal (S/N) est reliée au temps de résidence de l'analyte dans la chambre d'ionisation où a lieu la décharge Corona. De façon générale, un débit entre 2 et 3 L/min donne les meilleurs résultats. De plus, le débit du gaz vecteur peut influencer l'efficacité de la thermalisation des analytes par transfert de leur énergie interne via des collisions élastiques avec les molécules constituant le gaz vecteur, et ce, à température ambiante.

6.1.3. Désorption thermique par diode laser infrarouge

Tel que mentionné précédemment, le faisceau laser est focalisé sur l'arrière du puits à analyser qui emmagasine l'énergie sous forme de chaleur. L'énergie thermique est transférée aux analytes cristallisés qui se trouvent de l'autre côté de la paroi du puits irradié et ceux-ci sont alors vaporisés directement en phase gazeuse. Ceci nous amène donc à aborder la théorie physico-chimique sur laquelle repose la technologie LDTD. Tout d'abord, il faut se rappeler que le transfert d'énergie à une molécule thermosensible par chauffage produit un phénomène de compétition cinétique [134, 135]. En effet, il y aura compétition cinétique entre le processus de vaporisation, impliquant une dissociation des liens intermoléculaires, et celui de fragmentation impliquant une dissociation des liens intramoléculaires. L'énergie d'activation requise pour vaporiser des molécules thermosensibles étant généralement plus élevée que l'énergie d'activation qui produit la fragmentation, c'est donc la réaction de fragmentation qui est avantagée et plus rapide lors d'une élévation graduelle de la température à un taux faible ou moyen. Cependant, il a été démontré avec le LDTD que les composés cristallisés peuvent se désorber sous l'effet d'une température inférieure à celle du point de fusion généralement répertoriée dans la littérature, favorisant l'analyse des composés qui sont normalement thermosensibles et ainsi difficiles à analyser [134, 135].

Ce phénomène peut être expliqué, notamment, par la théorie d'Arrhenius [134, 135]. Cette théorie démontre la dépendance de vaporisation et de décomposition d'un composé thermosensible en fonction de la température. Les courbes d'Arrhenius comparent le logarithme de la constante de vitesse «k» du processus de vaporisation et de fragmentation en fonction de l'inverse de la température ($1/T$), permettant d'identifier un point de croisement entre les courbes représentant la réaction de décomposition et de vaporisation d'une molécule, et ce, à une valeur de $1/T$ donnée. Ce point de croisement représenterait la jonction entre un intervalle où des températures plus faibles (côté droit du point de croisement) favorisent la fragmentation d'un composé et un deuxième intervalle où des températures élevées (côté gauche du point de croisement) favorisent la vaporisation d'un composé. Ces études ont permis de démontrer qu'une élévation très rapide de la température de chauffage permettait de minimiser le temps qu'une molécule passait dans l'intervalle où le processus cinétique de fragmentation est favorisé, permettant ainsi d'atteindre l'énergie d'activation de vaporisation plus rapidement pour générer l'espèce en phase gazeuse. Le LDTD exploite donc ce comportement de la matière puisqu'il a la capacité de chauffer rapidement (à un taux de 3000 °C/s) la surface métallique du puits dans lequel se trouve l'échantillon, permettant un transfert d'énergie ultrarapide qui surpasse largement l'énergie d'activation du processus de fragmentation et qui permet d'atteindre celui de vaporisation. Le temps pendant lequel la molécule est soumise à un niveau d'énergie favorisant sa décomposition est donc nul (équivalent pratiquement à zéro). Lorsque l'énergie d'activation liée à la vaporisation est transmise à l'échantillon, la désorption de celui-ci en phase vapeur est le processus majoritaire, voire unique.

Précédant la mise en marche de la diode laser, un tube de transfert est positionné au-dessus du puits et scelle celui-ci. Cette étape est importante afin de concentrer les analytes en phase vapeur, d'éviter les pertes de molécules en phase vapeur et pour servir de canal de transfert pour les analytes vers la source d'ionisation APCI (aiguille Corona). En effet, une fois la désorption complétée, un gaz vecteur entraîne les molécules neutres en phase gazeuse dans la région de l'aiguille Corona pour y être ionisées. Les ions générés sont ensuite attirés dans le MS par l'effet d'entraînement du vacuum. Le gaz vecteur permet aussi d'effectuer la thermalisation des analytes par transfert de leur énergie interne via des collisions élastiques avec les molécules constituant le gaz vecteur, et ce, à température

ambiante. Ce phénomène de thermalisation a pour effet de stabiliser les analytes et de réduire la fragmentation potentielle qui pourrait avoir lieu avant l'ionisation, même si cela n'est pas fréquent puisqu'il n'y a pas d'excès d'énergie transféré aux analytes [131].

6.1.4. Source d'ionisation APCI

La technique APCI conventionnelle est normalement couplée à la HPLC/LC et est appropriée pour ioniser les analytes volatiles, thermostables, neutres ou peu polaires. Dans le cas du LDTD-APCI, cette limitation est moindre puisqu'il est souvent possible, pour les raisons évoquées précédemment, d'analyser des composés thermosensibles et de polarité un peu plus élevée. La limitation la plus importante est reliée au fait que les analytes doivent être vaporisés afin de pouvoir être ionisés et analysés. Si un composé ne peut pas être désorbé en phase vapeur par le LDTD, celui-ci ne pourra pas être analysé. Dans ce genre de situation, on pourrait, par exemple, recourir à des techniques de dérivation afin de rendre l'échantillon plus volatil.

Le module APCI classique couplé à un HPLC/LC est constitué d'un nébuliseur et d'une cellule de quartz chauffée servant à vaporiser le solvant chromatographique et les analytes, et ce, avant que le mélange analytes/solvant n'arrive dans la zone de l'aiguille Corona sur laquelle est appliqué un voltage (+/-) de l'ordre du kV. Cette différence de potentiel générée entre l'aiguille et une contre électrode crée une décharge Corona au bout de l'aiguille et produit un courant de l'ordre du μA [136]. Les e^- libres contenus dans le plasma entreront en collision avec les espèces majoritaires de l'air ambiant (N_2 et O_2), créant principalement les ions réactifs primaires de type radicaux N_2^{*+} et O_2^{*+} [137, 138]. Ceux-ci réagiront avec l'humidité de l'air et/ou les molécules du solvant, générant ainsi des ions réactifs (+/-). Le principal mécanisme de formation d'analytes chargés positivement est par transfert d'un proton entre un ion réactif protoné et l'analyte. Cette réaction est régie par l'affinité protonique (AP) respective des composés et elle survient lorsque l'affinité protonique des analytes est supérieure à l'affinité protonique des ions réactifs.

L'ionisation positive peut aussi se produire via des mécanismes autres que le transfert d'un proton tel que l'addition d'un électrophile sur l'analyte, ce qui forme un adduit et

complique l'interprétation des résultats, ou bien par un échange de charge déterminé par l'énergie d'ionisation et de recombinaison de l'analyte et de l'ion réactif.

Concernant la formation d'ions chargés négativement, ceux-ci peuvent se former par le transfert d'un proton, entre l'analyte et un anion, lorsque le caractère acide en phase gazeuse de l'analyte est supérieur à celui de l'ion réactif. Cependant, la capture électronique, dissociative ou non, est le principal mécanisme en APCI (-) où l'analyte incorpore un électron libre dans une de ces orbitales. L'affinité électronique régit ce phénomène et celle-ci provient de la présence d'atomes électronégatifs (halogènes) ou de groupements électro-attracteurs sur le composé, par exemple un groupement carbonyle conjugué ou un groupement nitro [138]. La figure 2 ci-dessous résume les différents mécanismes d'ionisation en APCI (+/-).

Polarité	Réaction	Mécanisme
APCI (+)	$M + [R + H]^+ \rightarrow [M + H]^+ + R$	Transfert d'un proton
	$M + X^+ \rightarrow [M + X]^+$	Addition électrophile
	$M + R^+ \rightarrow M^+ + R$	Échange de charge
APCI (-)	$M + R^- \rightarrow [M - H]^- + RH$	Transfert d'un proton
	$M + e^- \rightarrow M^-$	Capture électronique
	$MA + e^- \rightarrow M + A^-$	Capture électronique dissociative

M = analyte; R = ions réactifs; X = composé électrophile; A = Halogène

Figure 2. Mécanismes d'ionisation en APCI (+/-).

À l'opposé, la source APCI intégrée dans un LDTD ne nécessite pas de nébuliseur, ni de cellule de quartz chauffée pour transformer l'échantillon en phase gazeuse puisqu'il n'y a pas de solvant présent dans l'échantillon. En effet, le solvant est évaporé avant d'effectuer la désorption lors de la cristallisation des analytes. Cela signifie que le gaz inerte N₂ utilisé dans un LC-APCI typique n'est pas nécessaire. Puisqu'il est évaporé au complet, le solvant utilisé pour la déposition de l'échantillon dans le puits de la plaque analytique ne provoquera pas la suppression du signal dû à une compétition pour la protonation provenant

des composants de la phase mobile comme cela peut être le cas dans une analyse de type LC-APCI classique [139-141]. De plus, puisqu'il n'y a pas de solvant présent dans la source d'ionisation, c'est l'humidité (H₂O) de l'air qui joue le rôle d'agent ionisant (au lieu du solvant) dans le mode d'ionisation positif. En effet, les électrons de la décharge Corona réagiront préférentiellement avec les molécules N₂ et O₂ contenues dans le gaz vecteur (air) afin de former les ions primaires N₂⁺ et O₂⁺. Ces ions primaires réagiront ensuite avec les molécules d'eau (H₂O) présentes dans le gaz vecteur. La réaction avec l'humidité de l'air va générer différentes espèces telles que décrites dans la chaîne réactionnelle ci-dessous (figure 3). La présence d'un taux d'humidité élevé dans la région d'ionisation provoquera la formation d'un plus grand nombre de clusters d'eau de grande dimension de type H⁺(H₂O)_n et ceci aura un impact négatif sur l'ionisation des analytes et sur la sensibilité [142].

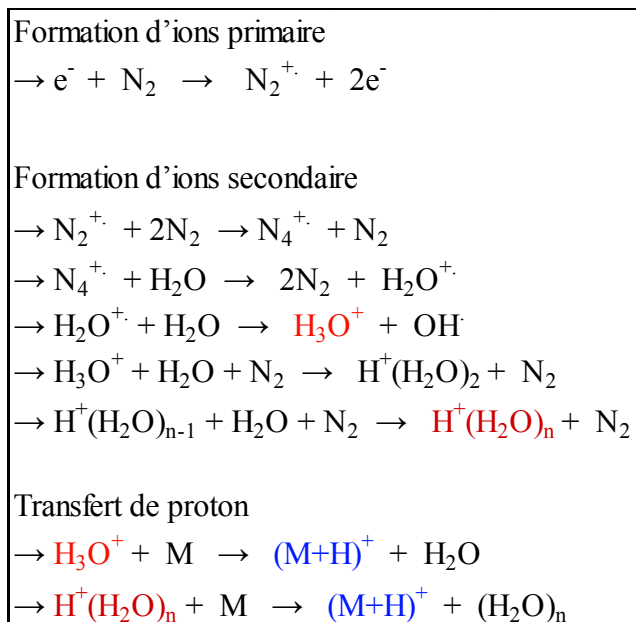


Figure 3. Ions primaires et secondaires générés lors d'une décharge Corona (APCI) pendant l'ionisation des composés.

Un des avantages d'utiliser une source d'ionisation de type LDTD-APCI, par rapport à une source ESI, est que celle-ci est moins influencée par les effets de matrice qui provoquent généralement une suppression de l'ionisation/signal [143, 144]. Ceci serait dû à plusieurs facteurs et plusieurs hypothèses ont été mises de l'avant pour expliquer ces observations. Tout d'abord, la concentration jouerait un rôle important sur l'effet de matrice

plus élevé observé avec une source ESI qu'avec une source APCI. En effet, à concentration plus élevée, il y aurait une quantité limitée de charges en excès disponibles sur les gouttelettes et même une saturation des gouttelettes par les analytes à la surface, ce qui aurait comme effet de nuire à l'éjection des ions qui se retrouvent alors trappés à l'intérieur des gouttelettes.

Deuxièmement, si la concentration des interférents et des contaminants est importante, cela aurait un effet sur l'augmentation de la viscosité et de la tension de surface des gouttelettes produites en ESI, contribuant à une moins bonne évaporation du solvant. Ainsi, cela diminuerait la capacité des analytes à atteindre la phase vapeur. De plus, puisqu'aucune phase mobile (solvants) n'est utilisée, cela réduit la présence de bruit de fond généralement observé en LC-APCI/ESI.

Chapitre 7. Développement d'une nouvelle méthode d'analyse multi-résidus par LDTD/APCI-MS/MS pour la quantification de pesticides et de produits pharmaceutiques dans les eaux usées

Avant-propos: L'article présenté ci-dessous décrit le développement d'une méthode d'extraction en phase solide (SPE) couplée à une nouvelle technique d'analyse d'échantillons, soit le «laser diode thermal desorption» (LDTD). Cet instrument a été utilisé pour la quantification de neuf contaminants émergents (pesticides, hormones et produits pharmaceutiques) dans des échantillons d'eaux usées.

La recherche de la littérature pertinente, la préparation des échantillons, les extractions en phase solide, les analyses ainsi que toutes les manipulations en laboratoire ont été effectuées par le premier auteur de ce mémoire. La quasi totalité des compilations de résultats et de leur interprétation a été effectuée par le premier auteur de ce mémoire. Les coauteurs ont agi à titre de conseillers scientifiques pour la rédaction et la correction de cet article. M. Paul Fayad (coauteur) m'a assisté et conseillé occasionnellement pour l'utilisation des instruments analytiques et pour l'interprétation des résultats.

Il est à noter que les références associées à cet article ont été intégrées, sous un format uniforme, à la bibliographie située à la fin du mémoire. De plus, toutes les figures et les tableaux dont la numérotation débute par la lettre «S» (ex. Table S-1 ou Figure S-1) sont situés à la fin de ce chapitre 7 à la section «Supporting Information» et n'apparaissent donc pas directement à l'endroit où ils sont mentionnés pour la première fois. À titre d'information, l'article qui suit a été soumis au journal scientifique *Analytica Chimica Acta*.

Development of a new multi-residue LDTD-APCI-MS/MS method for the detection and quantification of pesticides and pharmaceuticals in wastewater samples

Michel Boisvert, Paul B. Fayad and Sébastien Sauvé*

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

ABSTRACT

A new solid phase extraction (SPE) method coupled to a high throughput sample analysis technique was developed for the simultaneous determination of nine selected emerging contaminants in wastewater (atrazine, desethylatrazine, 17 β -estradiol, ethynylestradiol, northindrone, caffeine, carbamazepine, diclofenac and sulfamethoxazole). We specifically included pharmaceutical compounds from multiple therapeutic classes, as well as pesticides. Sample pre-concentration and clean-up was performed using a mixed-mode SPE cartridge (Strata ABW) having both cation and anion exchange properties, followed by analysis by laser diode thermal desorption/atmospheric pressure chemical ionization coupled to tandem mass spectrometry (LDTD-APCI-MS/MS). The LDTD interface is a new high-throughput sample introduction method, which reduces total analysis time to less than 15 seconds per sample as compared to minutes with traditional liquid-chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Several SPE parameters were evaluated in order to optimize recovery efficiencies when extracting analytes from wastewater, such as the nature of the stationary phase, the loading flow rate, the extraction pH, the volume and composition of the washing solution and the initial sample volume. The method was successfully applied to real wastewater samples from the primary sedimentation tank of a municipal wastewater treatment plant. Recoveries of target compounds from wastewater ranged from 78 % to 106 %, the limit of detection ranged from 30 to 122 ng/L while the limit of quantification ranged from 90 to 370 ng/L. Calibration curves in the wastewater matrix showed good linearity ($R^2 \geq 0.991$) for all target analytes and the intraday and interday coefficient of variation was below 15%, reflecting a good precision.

Keywords: LDTD-APCI-MS/MS, mixed-mode solid phase extraction, multi-residue analysis, wastewater, emerging contaminants.

INTRODUCTION

There has been a growing interest concerning the environmental impact of emerging contaminants (ECs) and their metabolites. Typically, they are found in the environment at concentrations in the ng L^{-1} or $\mu\text{g L}^{-1}$ level [122-127]. Such contaminants can have toxicological and biological effects on both human and the aquatic environment. They are a priority for governmental and regulatory agencies as potential target molecules for the establishment of new environmental guidelines for their use and disposal. They can be found as active ingredients in most personal care products (PCPs) (drugs, cosmetic, body lotion, shampoo), in pharmaceutically-active compounds (PhACs), in biocides and in aquaculture. They are subsequently released in the environment through multiple pathways. For example, humans and animals contribute to the introduction of PhACs, EDCs, PCPs and their metabolites through their urine and feces [40, 41]. Consequently, these chemicals are released to sewer systems leading to the wastewater treatment plants (WWTPs). Many of these compounds are resistant to biodegradation and conventional removal methods in WWTPs and thus they may eventually be released into receiving waters. Metabolic conjugates can also be converted back to their free parent forms. There is enough evidence to demonstrate that the presence of endocrine disruptors in the environment is responsible for reproductive defects in aquatic organisms and wildlife, with possible implications for human health [31, 32].

Due to the low levels (ng L^{-1}) of ECs in water samples, in addition to the nature and complexity of the different water matrices (e.g. wastewater), a cleanup and pre-concentration step is required prior to the detection and quantification. Solid phase extraction (SPE) is the most widely used method to preconcentrate ECs in water samples. The difficulty of simultaneously extracting and concentrating multiple pharmaceutical

compounds from different therapeutic classes and pesticides in aqueous samples lies in the choice of the sorbent bed used. It must be suited to extract a wide range of compounds with different polarities and physico-chemical properties. The majority of multi-residue SPE methods use a single stationary phase (mostly polymeric), with only a limited number using tandem SPE to improve selectivity [99, 145]. The poor selectivity may result in undesirable co-extracted interfering compounds from complex matrices. To improve extraction selectivity, several analytical methods have used mixed-mode cartridges, such as a cation-exchange sorbent for multiple pharmaceuticals of different therapeutic classes [146] and β -blockers/ β 2-agonists [147] or a mixed-mode anion-exchange sorbent for endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals and PCPs in wastewater [148]. This work will present the extraction of nine target analytes, including pharmaceuticals from a variety of therapeutic classes and pesticides (atrazine, desethylatrazine, 17β -estradiol, ethynylestradiol, northindrone, caffeine, carbamazepine, diclofenac and sulfamethoxazole) in wastewater with a mixed-mode SPE cartridge (Strata ABW) having both cation and anion exchange properties. An efficient sample cleanup step was applied to decreased matrix complexity, thus reducing matrix effects.

Numerous analytical procedures have been developed to identify and quantify ECs in water matrices and often include the use of chromatography (liquid or gas) coupled to tandem mass spectrometry (MS/MS). While sample preparation steps are time-consuming for ECs analysis in water, the chromatographic step also requires several minutes, increasing the overall analysis time and data generation. Recently, an alternate sample introduction technique, the laser diode thermal desorption-atmospheric pressure chemical ionization (LDTD-APCI) apparatus, has eliminated the use of a LC/GC step prior to detection, thereby reducing analysis time, sample pre-treatment and cost; eliminating

chromatography columns and reducing solvent consumption, while increasing sample throughput. The assembly and schematic diagram of the LDTD-APCI source have previously been reported [149]. The LDTD-APCI is coupled to MS/MS and reduces total analysis time to less than 15 seconds compared to minutes with traditional liquid/gas-chromatography coupled to MS/MS. It has been applied and validated on endocrine disrupting compounds (steroid hormones and parabens) in wastewater samples as well as solid matrices (municipal sludge cakes, aquatic sediments and agricultural soils) [132, 150]. The previously developed LDTD-APCI-MS/MS methods [132, 150, 151] have been applied to compounds having similar physico-chemical properties since it is based on a heat gradient that volatilizes the analytes of interest that are deposited in a sample well. Compounds are ionized in the APCI region before entering the MS/MS. This paper will describe an LDTD-APCI-MS/MS method capable of simultaneously analyzing nine different pharmaceutical compounds of multiple therapeutic classes and pesticides, having a wide range of physico-chemical properties.

The objective of this study was to develop and validate a rapid, high throughput, sensitive and reliable LDTD-APCI-MS/MS method with a sample pre-concentration and an efficient cleanup procedure using a mixed-mode cartridge with cation and anion-exchange properties for the determination of nine target analytes (pharmaceuticals and pesticides) in wastewater. The cleanup procedure is especially important because the coupling with the LDTD does not allow the chromatographic separation that is normally used for such mass spectrometry analysis. The determination of the selected compounds at low-nanogram per liter levels in wastewater was performed to confirm the applicability of the method in real environmental samples. This multi-residue analytical method could provide reliable information on the fate of a wide range of pharmaceuticals and pesticides in WWTPs as

well as surface water, to assess drug removal, partition and fate in the environment.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals, Reagents and Stock Solutions. Atrazine (ATZ, purity $\geq 97.4\%$), desethylatrazine (DEA, purity $\geq 99.4\%$), 17β -estradiol (E2, purity $\geq 99.6\%$), ethynylestradiol (EE2, purity $\geq 98\%$), northindrone (NOR, purity $\geq 98\%$), sulfamethoxazole (SMX, purity $\geq 99.9\%$), diclofenac (DCF, purity $\geq 98\%$), carbamazepine (CBZ, purity $\geq 99\%$), and caffeine (CAF, purity $\geq 99\%$) were of HPLC grade and purchased from Sigma Aldrich (Oakville, ON, Canada). Isotopically labeled atrazine ($[^{13}\text{C}_3]$ -ATZ, purity 99%, $100\ \mu\text{g ml}^{-1}$ in nonane), DL-estradiol ($[^{13}\text{C}_6]$ -E2, purity 99%, $100\ \mu\text{g ml}^{-1}$ in MeOH), carbamazepine (CBZ-d_{10} , purity 98%, $100\ \mu\text{g ml}^{-1}$ in acetonitrile- d_3), sulfamethoxazole ($[^{13}\text{C}_6]$ -SMX, purity 99%, $100\ \mu\text{g ml}^{-1}$ in acetonitrile) and caffeine ($[^{13}\text{C}_3]$ -CAF, purity 99%, $100\ \mu\text{g ml}^{-1}$ in MeOH) used as an internal standards (IS), were obtained from Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (Andover, MA), whereas diclofenac (DCF-d_4 , 99%, solid) was obtained from C/D/N Isotopes (Pointe-Claire, Qc, Canada). Sodium hydroxide (certified A.C.S. grade) was purchased from J.T. Baker (Phillipsburg, NJ). Ammonium hydroxide 28-30% (certified A.C.S. grade) and hydrochloric acid 36.5-38% (certified A.C.S. grade) was purchased from Fisher Scientific (Whitby, ON, Canada). All solvents used were of analytical grade purity from Fisher Scientific (Whitby, ON, Canada) and deionized/distilled water ($\text{dd-H}_2\text{O}$) was used for dilutions. Individual stock solution standards were prepared in methanol (MeOH) at a concentration of $1000\ \text{mg L}^{-1}$ and kept at -20°C for a maximum of six months. Individual intermediate solutions were prepared by dilution of the stock solution in MeOH to a concentration of $10\ \text{mg L}^{-1}$. Working solutions of non-isotopically labeled and isotopically labeled compounds were prepared daily at a concentration of $1\ \text{mg L}^{-1}$ by dilution in methanol (MeOH) from individual stock solutions.

Instrumentation. Glass fiber pre-filters were used for wastewater filtration in sequence from the largest to the smallest pore size (8.0- μm , 3.0- μm and 0.45- μm pore-size) and were manufactured by Millipore (Billerica, MA). SPE cartridges Strata X (6 mL, 500 mg of sorbent mass), Strata XA (6 mL, 500 mg of sorbent mass), Strata XC (12 mL, 500 mg of sorbent mass), Strata Screen C (6 mL, 500 mg of sorbent mass), Strata Phenyl (6 mL, 500 mg of sorbent mass), Strata C18 (6 mL, 500 mg of sorbent mass), Strata ABW (6 mL, 1000 mg of sorbent mass) and Strata SDB-L (3 mL, 500 mg of sorbent mass) were obtained from Phenomenex (Torrance, CA). SPE was performed using a 12-position manifold manufactured by Phenomenex (Torrance, CA). SPE eluates were evaporated using a 9-port Reacti-vap unit from Pierce (Rockford, IL). Desorption/ionization of analytes were performed with the model T-960-LDTD APCI interface which was controlled by the LazSoft 4.0 software (Phytronix Technologies, Quebec, QC, Canada) integrated with the Excalibur 2.0 software (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Ionization was performed by an APCI source in positive mode (PI) integrated within the LDTD system. For analyte detection, the LDTD-APCI system was mounted on a Quantum Ultra AM triple quadrupole mass spectrometer purchased from Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA).

Analytical conditions. Samples were spotted into a LazWell 96-well polypropylene plate containing inserts made of a proprietary stainless steel alloy. Aliquots (2 μL) of the analyte solution dissolved in an appropriate solvent were deposited in a well cavity of the LazWell plate, and then evaporated at 30 °C. An infrared (IR) laser diode (980 nm, 20 W, continuous) was then focalized to impact the back of the inserts, thermally desorbing the dried sample which is vaporized into the gas phase. The uncharged analyte molecules travel along the transfer tube in a carrier gas (medical grade purified air). Upon reaching the

corona discharge region, they are ionized by the APCI and then transferred to the MS inlet (Figure 7-1 [131]).

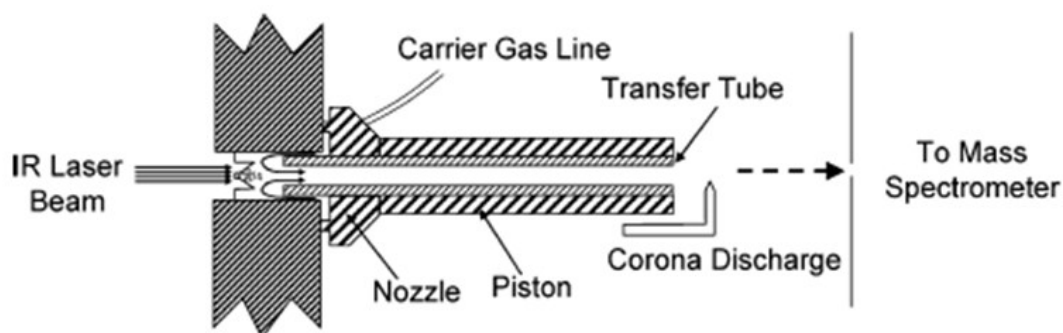


Figure 7-1. Schematic diagram of the LDTD-APCI assembly.

The optimization of the LDTD-APCI conditions as well as the optimization of the MS/MS conditions in positive ionization mode (PI) were performed by depositing 2 μL of the analyte standard of interest and the corresponding IS at a concentration of 1 mg L^{-1} in the well plate inserts. Optimization of the LDTD-APCI parameters was performed in pre-concentrated wastewater aliquots in order to account for the matrix effects. The LDTD-APCI source parameters were set as follow: a capillary temperature of 350 $^{\circ}\text{C}$, a discharge current of 3.6 μA in PI mode, a carrier gas temperature of 50 $^{\circ}\text{C}$, a carrier gas flow set at 3.0 L min^{-1} , the ion sweep gas set at 0.3 (arbitrary unit). The sheath gas, the auxiliary gas, the skimmer offset and the vaporizer temperature were set to 0. The final laser pattern then consisted of a 1 sec initial linear ramp from 0 to 30% with no holding time at maximum power before shutdown.

The method limit of detection (MLD) and limit of quantitation (MLQ) were determined as 3.3 and 10 times, respectively, the standard deviation of the y intercept divided by the slope of the calibration curve in wastewater using the optimized SPE procedure. This is in agreement with the method described by the International Conference

on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use [152].

The optimization of LDTD parameters was performed in positive ionization (PI) mode by the deposition of 2 μL of each target molecule and isotopically-labeled standards at a concentration of 1 mg L^{-1} in the well of the analytical Laz-Well plate. The resulting optimized LDTD parameters are described in Table VII-1 and the classification of target compounds and their respective IS for each LDTD method is presented in Table S-1. For LDTD, the target compounds were analyzed in three desorption events (three plate wells) in PI mode using three LDTD methods. The different compounds of interest were divided into three different LDTD methods (Table VII-1). Several LDTD methods were necessary because of the limitation associated with the maximum number of MS/MS transitions that could be included in the same method using the Quantum software. Method 1 used two desorption events, *i*) ATZ, DEA and CBZ with [$^{13}\text{C}_3$]-ATZ and CBZ- d_{10} as IS and *ii*) CAF, SMZ and DCF with [$^{13}\text{C}_3$]-CAF, [$^{13}\text{C}_6$]-SMX and DCF- d_4 as IS. The third desorption event included E2, EE2 and NOR with [$^{13}\text{C}_6$]-E2 as IS. Two desorption events were used for method 1, since dwell times were adjusted to have a sufficient number of data points per MS peak to achieve reliable peak quantification, without compromising signal-to-noise and reproducibility.

Table VII-1. Optimized LDTD parameters of each LDTD method.

Optimized LDTD parameters	LDTD methods		
	1	2	3
Laser power ^a	30%	30%	30%
Laser pattern	2 sec. at 0% 1.0 sec. from 0% to 30% 0.01sec. from 30% to 0%	2 sec. at 0% 1.0 sec. from 0% to 30% 0.01sec. from 30% to 0%	2 sec. at 0% 1.0 sec. from 0% to 30% 0.01sec. from 30% to 0%
Solvent of deposition	MeOH	ACN	MeOH
Volume of deposition	2 μL	2 μL	2 μL
Carrier gas flow	3 L min. ⁻¹	3 L min. ⁻¹	3 L min. ⁻¹

^a Percentage of the maximum intensity (980 nm, 20 W)

Two selected reaction monitoring transitions (SRM) and their respective relative intensity ratio were used to avoid false positives and confirm the presence of the detected compounds of interest. The most intense precursor/product ion transition (SRM #1) was used for quantification and the second most intense precursor/product ion transition (SRM #2) was used for confirmation. The transitions and optimized MS/MS parameters are described in Table S-2.

Samples collection and preparation. The wastewater samples were collected from a pilot plant in the province of Quebec that has direct access to raw municipal wastewaters. The wastewater samples were received and treated within 24 hours of collection from the wastewater treatment plant. Wastewater samples were filtered using three consecutive nitrocellulose filters of different porosity (8.0 μm , 3.0 μm and 0.45 μm respectively). To prevent their degradation, freshly collected samples are acidified with concentrated HCl to pH 2. Filtered and acidified samples were kept at 4 °C for a maximum of 24 hours before analysis.

Solid phase extraction (SPE) procedure. Samples were processed by solid phase extraction with mixed mode cartridge Strata ABW (total volume of 6 mL with 1000 mg of sorbent mass). SPE was performed with 250 mL aliquots of wastewater with the pH adjusted to 2. Multiple SPE parameters were optimized: the cartridge type, the loading flow rate, the sample pH, the washing step, and the sample volume. The SPE cartridges were conditioned with 2×6 mL of MeOH followed by 2×6 mL of dd-H₂O acidified to pH 2. Samples were loaded on the cartridge column at a flow rate of 2 mL min^{-1} by applying negative pressure using a mechanical pump. The SPE cartridges were washed with 3×6 mL of dd-H₂O (acidified at pH 2) followed by 2×6 mL of 1:9 MeOH:H₂O (v/v) solution at a flow rate of 1 mL min^{-1} . After the loading step, the cartridges were air-dried at maximum pressure for 30 minutes. Analytes were eluted into conical bottom centrifuge tubes with 2×6 mL of 1:9 NH₄OH:MeOH (v/v) solution at a flow rate of 1 mL min^{-1} . The eluate was evaporated to total dryness under a gentle stream of nitrogen at 35 °C with a nine-port Reacti-vap unit from Pierce (Rockford, IL) and then reconstituted to 1 mL with MeOH for LDTD-APCI-MS/MS analysis. Once homogenized in MeOH, the eluate was centrifuged for 20 minutes at a speed of 2000 rpm. For LDTD methods 1 and 3 (Table VII-1), a 2- μ L aliquot of the supernatant was deposited directly into the wells of the LazWell LDTD plate. For LDTD method 2 (Table VII-1), 200 μ L of the remaining supernatant was transferred into a small vial and evaporated to dryness at 35 °C. It was then reconstituted and homogenized with 200 μ L of ACN and centrifuged at 2000 rpm for 20 minutes. 2 μ L of the supernatant of this new solution was deposited into the well plate for analysis.

Extraction Recovery of Samples. During the optimization of the SPE conditions, three sets of samples (A_{s1} , A_{s2} and A_m) were prepared to determine the recovery of the

extraction. The recovery values for the SPE method were evaluated at a concentration of 800 ng L⁻¹. Extraction recoveries were determined by comparing mean peak area ratios of target analytes spiked prior to extraction in wastewater samples (A_{s1}) with those of the target analytes spiked in postextraction wastewater samples (A_{s2}) in triplicate according to the SPE procedure tested and were reported as percentages. Un-spiked wastewater samples (A_m) were also extracted to account for their presence in the recovery values. In each set of samples, the internal standards were spiked after the extraction, before the reconstitution step. The following equation 1 was applied to calculate recovery values:

$$\text{Recovery (\%)} = \left(\frac{A_{s1} - A_m}{A_{s2} - A_m} \right) \times 100 \quad (1)$$

The ANOVA test included in The Statistical Package for Social Science (SPSS 13.0, Chicago, IL) was used to compare the variance of the mean for all recovery tests. Statistical significance was defined as a *P* value <0.05 using Tukey's b test as the post hoc test.

RESULTS AND DISCUSSION

Optimization of LDTD-APCI parameters. The development of a multi-residue method of analysis necessitated the optimization of several LDTD-APCI parameters, since the physico-chemical properties of the selected compounds differ according to their therapeutic class (pharmaceuticals) and use (pesticides). Therefore, the laser power (intensity), the laser pattern (duration of the laser ramp and the holding time at maximum laser intensity), the deposition volume, the carrier gas flow rate and the solvent of deposition were evaluated.

The solvent choice for analyte deposition had an important impact on the MS/MS peak shape, peak intensity and signal variability. Table S-3 compares the coefficient of variation CV ($n = 5$) of all selected compounds for 12 different solutions tested for analyte deposition. For the analysis of steroids, ACN gave a significantly lower CV (between 1 and 8%), better peak shapes and intensity whereas all other solvents gave significantly higher CV and peaks were not as Gaussian or intense. For the remaining target compounds, MeOH gave significantly lower CV (between 3 and 10%) better peak shapes and intensity whereas all other solvents gave significantly higher CV and peaks that were not as Gaussian or intense. In order to optimize signal intensity, reduce variability and have the fewer methods of analysis, ACN was the preferred solvent for the deposition of the hormones into the well cavity whereas MeOH was used for the remaining compounds. These solvents were used for all optimization experiments.

The laser power and the laser pattern are used to control the intensity, the duration of the ramp and the holding time at maximum intensity of the laser radiation applied to the back of the well. Increasing laser intensity and holding time will influence the amount of energy transferred to the sample as well as the amount of material thermally desorbed into the gas-phase. However, these parameters can also have an impact on the amount of

interfering contaminants desorbed into the gas phase. The presence of interfering contaminants in the corona region will influence the capacity of the APCI source to ionize the target analytes properly and affect the overall peak shapes and intensities. The laser power was optimized from 5 to 50% in steps of 5%. Results are showed in Table S-4 and a laser power of 30% was chosen for the analysis of all selected emerging contaminants, since it allowed for proper signal intensity and a low CV for all target compounds. Six different laser ramps were tested and compared for all target compounds. The duration of the laser ramp varied from 0.5 to 3.0 sec in steps of 0.5 sec (Table S-5). A duration of 1.0 sec was chosen for the analysis of all selected compounds. The holding time of the laser at maximum intensity was then optimized from 0 to 3.0 sec in steps of 0.5 sec (Table S-6). A holding time of 0 sec was chosen for the analysis of all selected emerging contaminants. The final laser pattern then consisted of a 1 sec initial linear ramp from 0 to 30% with no holding time at maximum power before shutdown.

Previous work [132] demonstrated the influence of deposition volume in the sample well on the effectiveness of the APCI. Indeed, one way of increasing sensitivity and improving the MDL is to enhance the signal by adding more sample, therefore more analyte, into the sample well cavities. It was shown that, either by ionic suppression, by proton affinity competition or by trapping the compounds into nonvolatile matrix products, an increase of material loaded into the well could affect signal intensity. The deposition volume was therefore varied from 2 to 8 μL in steps of 2 μL . Figure 7-2 demonstrates the effect of deposition volume on peak area for all target compounds. The peak areas of all compounds progressively decreased with increasing the deposition volume for compounds spiked in pre-concentrated wastewater samples at a given concentration. In order to minimize the matrix effect and maximize the peak area, an deposition volume of 2 μL was

chosen for the analysis of all selected compounds since this volume gave the highest intensities among those tested.

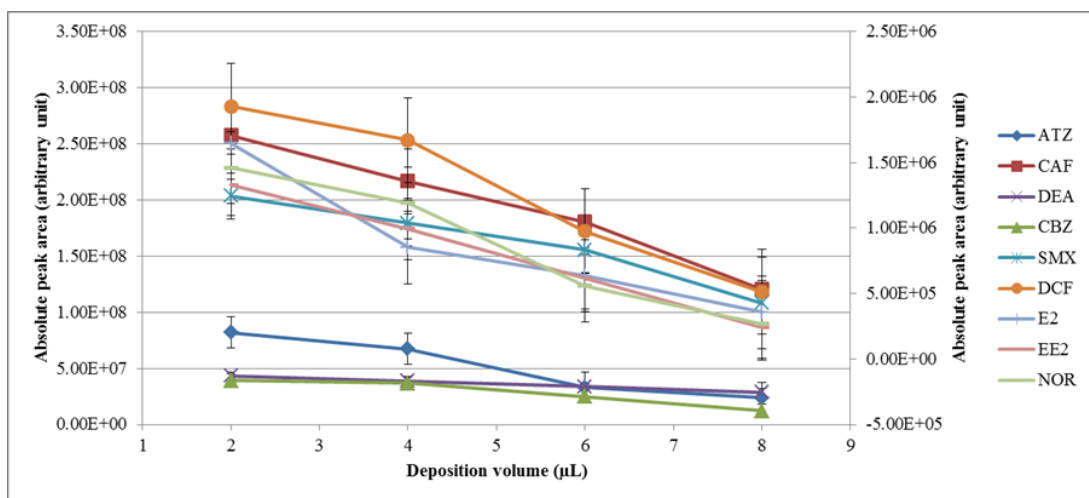


Figure 7-2. Effect of deposition volume on the peak area of target analytes in spiked effluent wastewater (CAF and CBZ use the left y-axis scale; other compounds use the right y-axis scale).

Figure 7-3 demonstrates the effect of the carrier gas flow rate on peak area for all target compounds. Maximum peak area was observed at a carrier gas flow rate of 3 L min^{-1} for almost all compounds. A carrier gas flow rate of 3 L min^{-1} was chosen in order to have a single method applicable to all selected compounds.

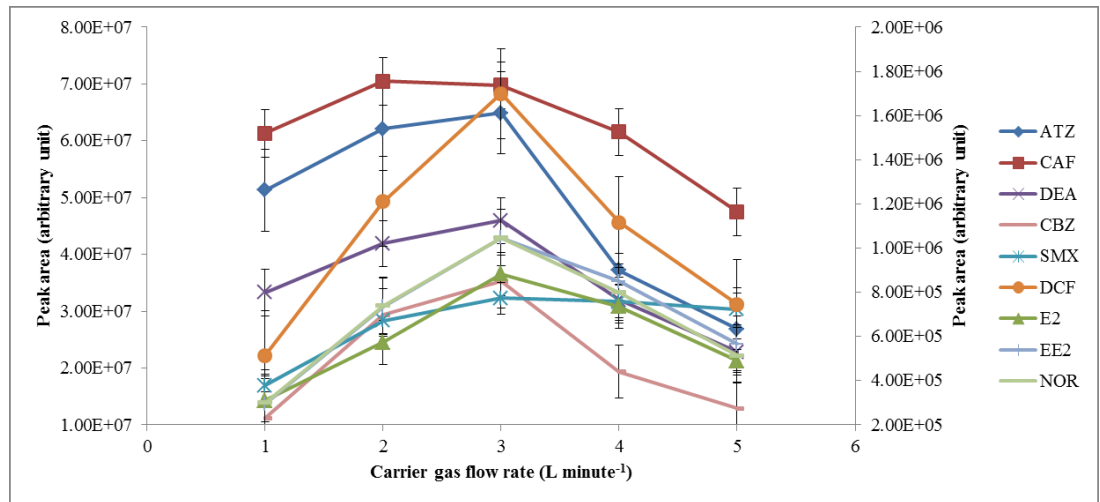


Figure 7-3. Effect of the carrier gas flow rate on the peak area of target analytes (CAF and CBZ use the left y-axis scale; other compounds use the right y-axis scale).

The aforementioned LDTD optimized parameters were chosen as a compromise solution from the average peak area, peak shape and signal variability for triplicate samples. In this study, we realized that the peak shape was the most important limitation to obtain a good signal correction from the IS, thus improving reproducibility. Beyond a certain value of laser intensity, duration of the ramp, holding time at maximum laser intensity or volume of deposition, the matrix effect did have a negative impact on the peak shape of all target analytes and it did not allow for reliable and reproducible peaks for quantitative analysis. Although the peak areas of all target compounds increased when increasing laser power, laser ramp and holding times at maximum laser power, the optimized values of the three LDTD-APCI methods were selected according to the peak shape/symmetries and CV.

Optimization of solid phase extraction (SPE) conditions. In order to have the best recoveries when extracting multiple analytes from several therapeutic classes and pesticides

in wastewater, optimization of several parameters is necessary. The cartridge type, the sample pH, the volume and solvent used for the washing step, the loading flow rate as well as the sample volume were tested and optimized. 2 X 6 mL 1:9 NH₄OH:MeOH (v/v) solution was used as the mobile phase for the elution step and it was not optimized.

To test for the sorption/desorption of target compounds on the sorbent material, 8 different cartridges were tested. Sorbent choice was a function of the nature of the matrix (wastewater) in which target analytes would be quantified and their physico-chemical properties such as pKa (Figure 7-4) and Log P (Table S-7). Recoveries values for each cartridge were calculated and are presented in Table S-8. The pH was a limiting factor when testing the different SPE sorbents. The pKa of target compounds was used to evaluate the pH of the sample that would promote the best interaction between the analytes and the sorbent. Figure 7-4 shows the effect of sample pH on ionic/neutral form of the target compounds based on their respective pKa. It was therefore decided to evaluate a range of pH, from 2 to 8. According to the results obtained and presented in Table S-8, the Strata ABW cartridge gave the best results and could selectively interact with target analytes while minimizing the retention of interfering contaminants. This selectivity toward target analytes was presumed to be due to its low carbon load (7%) and low surface area which decreased the adsorption of most interfering compounds in wastewaters having low to moderate hydrophobic characteristics while highly hydrophobic and cationic molecules were retained. Strata ABW is a silica-based cartridge functionalized with a strong cation exchanger (benzenesulfonic acid) and a short aliphatic chain with a terminal primary amino group (weak anion exchanger). This cartridge offers the following retention mechanisms for analytes: hydrophobic interactions (via the short aliphatic chain), π - π aromatic interactions, strong ionic interactions with positively ionized compounds and weak ionic

interactions with negatively ionized compounds. It was the only cartridge that allowed us to obtain good extraction recoveries ($\geq 78\%$) for all target compounds (Table S-8). The results indicated that the best recoveries were obtained at pH 2 (Table S-9). For some compounds, the change in pH had no significant impact on the recovery values. This was the case for atrazine, the two hormones (E1 and E2) and carbamazepine. In contrast, there was a significant decrease in the recovery values if the pH of the sample was increased for DEA, caffeine, diclofenac and SMX.

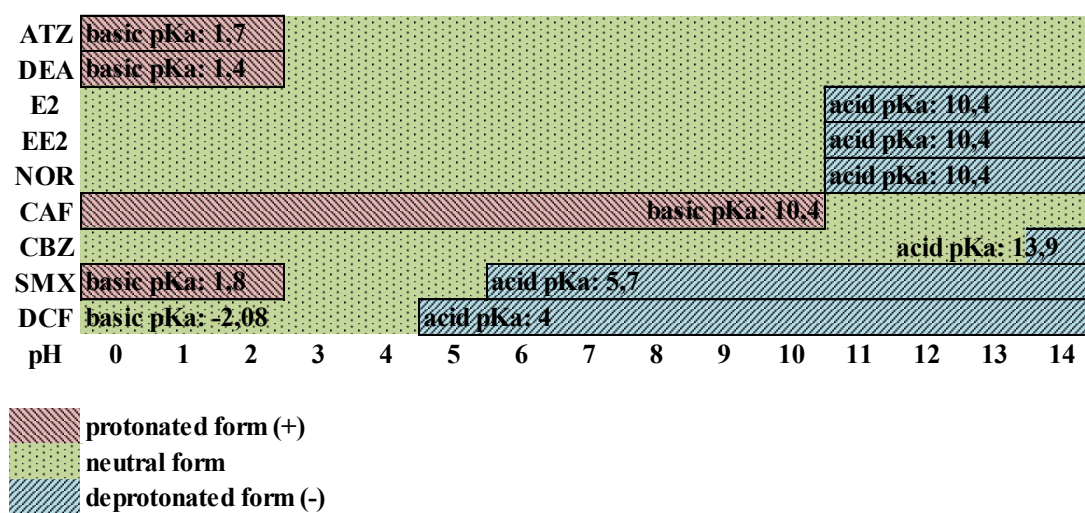


Figure 7-4. Effect of sample pH on ionization of target analytes according to their respective pKa.

The washing step is important, since interfering contaminants can co-elute with target analytes and cause matrix effects, asymmetrical peak shapes, signal suppression and lower recovery values. An aqueous wash solution having the same pH (pH = 2) as the sample with a small proportion of organic solvent such as MeOH, acetone or ACN, was used. Table S-10 shows the mean recovery and standard deviation (STD) for all compounds. Recoveries decreased with increasing proportion of organic solvent in the aqueous washing solution. The use of a proportion greater than 10% MeOH reduced

recovery values for all compounds. It was also observed that use of 10% MeOH improved the peak shape as compared to the use of 5% MeOH. This can be explained by the fact that a higher proportion of MeOH desorbs the more interfering contaminants at the wash step (prior to the elution step), thus reducing the matrix effect. The use of acetone caused a decrease in the recovery for all compounds compared to the use of MeOH with the same proportion. For ACN, results showed that it efficiently removed some interfering compounds, but not as well as MeOH. ACN is a less polar solvent and has a lower capacity for the solubilization of polar contaminants as compared to MeOH. In fact, the addition of ACN did not allow a reduction of matrix effect, sufficient to obtain symmetric and Gaussian MS peaks for all target analytes.

Matrix effects are generally reduced by desorbing interfering compounds that were co-extracted and retained in the cartridge. As mentioned earlier, by increasing the proportion of organic solvent in the wash solution, it is possible to elute more contaminants and hence reduce matrix effects. It is also possible to reduce matrix effects by increasing the volume of wash solution used. In this study, different volumes of wash solutions were tested and the results are presented in Table S-11. Nonetheless, an increase in the volume of the wash solution may end up having a negative impact on the recovery of target compounds. Experiments showed that the use of 1 X 6 mL (1:9 MeOH:water v/v) as washing solution did not have a significant impact on the recovery of target compounds as compared to the use of 2 X 6 mL (1:9 MeOH:water v/v). In fact, experiments showed that the use of 3 x 6 mL (1:9 MeOH:water v/v) decreased the recovery of caffeine and SMX, and a solution of 4 X 6 mL (1:9 MeOH:water v/v) significantly decreased the recovery of all compounds. With respect to those results, it was decided to use a washing volume of 2

X 6 mL (1:9 MeOH:water v/v) in order to desorb the maximum of interfering contaminants and to minimize matrix effects while maximizing recoveries of target analytes.

In order for the sorbent to interact efficiently with the analytes via interactions based on their molecular structure and chemical properties, the flow rate during sample loading should be low. If the loading flow rate is too fast, analytes do not have enough time to interact properly with the sorbent resulting in lower recoveries. There was no significant difference in recoveries when varying the flow rate from 1 to 5 mL min⁻¹ (Table S-12). Nonetheless, experiments done with a flow rate of 7 mL min⁻¹ indicated a slight decrease in recoveries for DEA, caffeine and SMX. Since a percolation time of 2 hours is not too long, a loading flow rate of 2 mL min⁻¹ was used subsequently.

For the extraction of analytes in environmental aqueous samples, the sample volume used during the loading step is a very important parameter. By increasing the volume, it increases the amount of analytes introduced in the cartridge and then into the mass spectrometer. Thus, it is possible to increase the concentration factor in order to improve the detection limits. By definition, the breakthrough volume is the maximum volume that can be loaded onto a sorbent without observing a significant decrease in recovery. To determine if the 250 mL aliquot of wastewater used for our experiments was below the breakthrough volume, different sample volumes were tested (Table S-13). No significant decrease in recovery was observed when varying the sample volume from 250 to 750 mL. This means the breakthrough volume had not been reached using up to 750 mL during the loading step. When using a volume of 1000 mL, there was a significant decrease in recovery of caffeine and SMX. In this study, a preconcentration factor of 250 was sufficient to obtain good method limit detection (MLD).

Method validation and application. To account for matrix effects and to validate the method, a four-point standard addition calibration curve was analyzed in a wastewater sample that was spiked prior to the SPE procedure. Each concentration level (from 0 to 434 $\mu\text{g L}^{-1}$) was analyzed in triplicate. Method validation parameters are presented in Table VII-2. The calibration curves showed good linearity, with coefficients of determination (R^2) ranging from 0.9913 to 0.9999. Method limits detection (MLD) and quantification (MLQ) calculated from the calibration curves ranged from 30 to 122 ng L^{-1} and from 90 to 370 ng L^{-1} , respectively.

Table VII-2. Method validation parameters including recoveries, sensitivity, linearity range, coefficient of correlation (R^2), the limit of detection (MLD), and the limit of quantification (MLQ).

Compounds	Recoveries (%) \pm STD	Equation	R^2	Linearity range ($\mu\text{g L}^{-1}$)	MLD (ng L^{-1})	MLQ (ng L^{-1})
ATZ	89 \pm 1	$y = 0.0054x + 0.0289$	0.9994	37-371	60.7	184.0
DEA	82 \pm 2	$y = 0.0054x + 0.0523$	0.9951	74-390	121.9	369.5
E2	106 \pm 2	$y = 0.0061x + 0.3803$	0.9913	33-399	53.9	163.3
EE2	102 \pm 2	$y = 0.003x + 0.2319$	0.9966	33-427	55.3	167.5
NOR	100 \pm 2	$y = 0.004x + 0.3983$	0.9978	25-412	41.1	124.6
CAF	78 \pm 1	$y = 0.0014x + 0.9526$	0.9999	18-435	29.6	89.7
CBZ	91 \pm 3	$y = 0.0069x + 0.4216$	0.9984	43-412	71.7	217.3
SMX	89 \pm 2	$y = 0.0076x + 0.288$	0.9980	26-404	43.5	131.9
DCF	94 \pm 2	$y = 0.0056x + 0.2869$	0.9992	36-431	58.9	178.5

Accuracy (Table VII-3) was determined for three concentration levels as percent bias (%) between the concentration added and that found in the spiked wastewater ($n = 3$). It was excellent (deviation of $\leq 14\%$) for all compounds at each environmentally significant concentration level (100, 200 and 300 ng L^{-1}). Intraday precision calculated for the three concentration levels ($n=10$, Table VII-3) ranged from 2 to 9% and interday precision ranged from 3 to 13%. SPE recoveries were between 78% and 106%.

Table VII-3. LDTD/APCI-MS/MS analysis of known amounts of target analytes spiked in wastewater samples including bias values and intraday/interday precision.

Compounds	Accuracy			Precision	
	amount added (ng L ⁻¹)	amount found (ng L ⁻¹)	bias (%)	intraday CV (%)	interday CV (%)
ATZ	100.0	93.7	-6	5	7
	200.0	211.6	+6	6	10
	300.0	284.2	-5	3	6
DEA	100.0	< MLD	< MLD	8	12
	200.0	185.5	-7	7	10
	300.0	307.2	+2	9	10
E2	100.0	89.8	-10	6	9
	200.0	206.1	+3	4	6
	300.0	279.3	-7	7	9
EE2	100.0	91.0	-9	2	3
	200.0	204.1	+2	5	8
	300.0	315.6	+5	3	4
NOR	100.0	86.0	-14	7	11
	200.0	192.5	-4	6	9
	300.0	281.4	-6	3	4
CAF	100.0	97.7	-2	8	12
	200.0	191.1	-4	9	13
	300.0	291.3	-3	7	10
CBZ	100.0	104.2	+4	5	7
	200.0	210.9	+5	9	13
	300.0	310.4	+3	3	5
SMX	100.0	90.3	-10	4	7
	200.0	183.5	-8	5	8
	300.0	279.6	-7	8	13
DCF	100.0	94.7	-5	6	10
	200.0	188.6	-6	9	9
	300.0	292.3	-3	7	7

To demonstrate method applicability, the complete off-line SPE LDTD-APCI-MS/MS method with its optimized parameters was applied to a wastewater influent and

effluent sample, in order to compare the efficiency of a primary sedimentation tank to remove target analytes. Eight of the nine compounds were detected and quantified in the samples (Table VII-4). Atrazine and DEA were detected but were not quantifiable (concentration < MLD), while the remaining target compounds were detected with concentrations ranging from 190 to 3431 ng L⁻¹ in the influent sample and from 180 to 3125 ng L⁻¹ in the effluent sample. The results demonstrate that the primary sedimentation tank was inefficient with respect to the removal of the target analytes.

Table VII-4. Mean concentration (mean ± STD, n = 3) of target compounds in raw wastewater samples and wastewater after the sedimentation treatment.

Compounds	Concentration found (ng L ⁻¹) ± STD	
	Wastewater influent	Wastewater effluent
ATZ	< MLD	< MLD
DEA	< MLD	< MLD
E2	310 ± 2	290 ± 2
EE2	388 ± 2	380 ± 1
NOR	496 ± 2	450 ± 3
CAF	3431 ± 1	3125 ± 3
CBZ	305 ± 3	274 ± 2
SMX	190 ± 2	180 ± 1
DCF	256 ± 2	200 ± 2

CONCLUSION

A multi-residue method based on LDTD-APCI-MS/MS was developed for the quantification of 9 emerging contaminants including pesticides, hormones and pharmaceutical products. This method is simple, sensitive and convenient for high-throughput analysis. The applicability of this new method in environmental samples was confirmed by analysing a wastewater influent and effluent. Target analytes were determined at ng L^{-1} levels using a 250 mL aliquot of wastewater sample. Since there was no chromatography separation step involved in the analysis process, the total analysis time was reduced to seconds compared to minutes for traditional LC-MS/MS system. A solid phase extraction method using a mixed mode Strata ABW cartridge was developed and allowed for good selectivity and reduced matrix interference by using an efficient washing step. SPE recoveries ranged from 78% to 106%. The calibration curves showed good linearity, with R^2 values ranging from 0.9913 to 0.9999. Method limits of detection and quantification ranged from 30 to 122 ng L^{-1} and from 90 to 370 ng L^{-1} , respectively. Accuracy was excellent (deviation of $\leq 14\%$) for all compounds at three different concentration levels. Intraday and interday precision was good for all compounds with CV from 2 to 9% and from 3 to 13%, respectively. Eight of the nine compounds were detected and quantified in the samples. Atrazine and DEA were not detected (concentration $< \text{LOD}$), while the rest of the target compounds were detected with concentrations ranging from 190 to 3431 ng L^{-1} in influent samples and ranging from 180 to 3125 ng L^{-1} in effluent sample.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank Dr. Peter Vanrolleghem and his team at Université Laval for their assistance with sample collection and transport. John Meunier Inc. and the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada are thanked for their financial and technical support to the primEAU project.

Supporting Information

Michel Boisvert, Paul B. Fayad and Sébastien Sauvé*

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

Table S-1. Classification of target compounds and their respective IS for each LDTD method.

Compounds	IS	LDTD method #
ATZ	[¹³ C ₃]-ATZ	
DEA	[¹³ C ₃]-ATZ	1
CBZ	CBZ-d ₁₀	
E2	[¹³ C ₆]-E2	
EE2	[¹³ C ₆]-E2	2
NOR	[¹³ C ₆]-E2	
CAF	[¹³ C ₃]-CAF	
SMX	[¹³ C ₆]-SMX	3
DCF	DCF-d ₄	

Table S-2. Optimized MS/MS parameters in SRM mode used for the quantification (SRM #1) and confirmation (SRM #2) of selected compounds in positive (PI) ionization mode.

Compounds	Ionization mode	Precursor ion (m/z)	SRM #1 (m/z)	CE (V)	SRM #2 (m/z)	CE (V)	Tube Lens
ATZ	APCI (+)	216.12	216.1 → 173.9	18	216.1 → 131.9	23	70
DEA	APCI (+)	188.10	188.1 → 145.9	18	188.1 → 103.9	27	60
E2	APCI (+)	255.18	255.1 → 159.1	17	255.2 → 133.1	18	70
EE2	APCI (+)	279.10	279.1 → 133.1	16	279.1 → 159.1	18	55
NOR	APCI (+)	299.20	299.2 → 109.1	28	299.2 → 91.1	39	89
CBZ	APCI (+)	237.12	237.1 → 194.1	19	237.1 → 192.1	24	65
CAF	APCI (+)	195.12	195.1 → 137.9	19	195.1 → 109.9	21	69
SMX	APCI (+)	254.06	254.0 → 156.0	14	254.1 → 107.9	24	55
DCF	APCI (+)	296.01	296.0 → 215.0	19	296.0 → 249.9	12	63
[¹³ C ₃]-ATZ	APCI (+)	219.11	219.1 → 177.0	18	219.1 → 106.0	30	71
[¹³ C ₆]-E2	APCI (+)	261.18	261.1 → 159.0	17	261.2 → 133.1	20	73
CBZ-d ₁₀	APCI (+)	247.17	247.1 → 204.1	24	247.2 → 202.1	36	72
[¹³ C ₃]-CAF	APCI (+)	198.11	198.1 → 140.1	20	198.1 → 112.1	24	72
[¹³ C ₆]-SMX	APCI (+)	260.08	260.0 → 162.0	16	260.1 → 114.1	22	61
DCF-d ₄	APCI (+)	300.26	300.3 → 254.1	13	300.3 → 219.1	21	69

Table S-3. Effect of different solvents deposition on the coefficient of variation (CV) for the analysis of all selected emerging contaminants in positive (PI) ionization mode (n = 5).

SRM MS/MS transitions of selected compounds	Coefficient of variation (%) of different solvents deposition ^a											
	sol. 1	sol. 2	sol. 3	sol. 4	sol. 5	sol. 6	sol. 7	sol. 8	sol. 9	sol. 10	sol. 11	sol. 12
ATZ 216.1 → 131.9	42	3	55	11	30	16	42	58	9	12	7	24
ATZ 216.1 → 173.9	33	7	14	13	3	19	34	28	10	32	15	20
DEA 188.1 → 103.9	35	6	14	11	23	13	4	16	12	29	15	22
DEA 188.1 → 145.9	50	7	4	7	9	18	26	17	9	22	11	17
E2 255.2 → 133.1	1	30	33	73	43	18	76	31	59	53	46	50
E2 255.2 → 159.1	5	28	17	27	17	71	60	39	43	99	13	56
EE2 279.1 → 133.1	3	53	11	40	6	36	31	65	37	61	30	46
EE2 279.1 → 159.1	6	44	7	71	30	43	26	52	19	134	43	89
NOR 299.2 → 109.1	6	57	38	29	15	35	14	45	21	81	10	46
NOR 299.20 → 91.1	7	52	40	32	14	37	15	43	24	70	11	41
CAF 195.1 → 109.9	8	8	13	13	12	18	16	18	14	10	17	14
CAF 195.1 → 137.9	7	7	16	6	6	21	18	8	4	14	9	12
CBZ 237.1 → 192.1	8	6	8	9	17	16	3	8	13	29	1	15
CBZ 237.1 → 194.1	8	7	14	11	22	7	6	11	12	16	4	10
SMX 254.1 → 107.9	144	6	22	35	7	70	56	47	27	52	138	95
SMX 254.1 → 156.0	45	10	10	18	27	65	65	63	43	79	68	74
DCF 296.0 → 215.0	5	3	40	14	12	12	15	45	19	55	17	36
DCF 296.0 → 249.9	8	5	20	27	30	19	35	60	31	116	14	65

^a Sol.1 = ACN; Sol.2 = MeOH; Sol.3 = 10% water (with 0.1% formic acid)/ACN; Sol.4 = 10% water/ACN
 Sol.5 = 10% water/MeOH; Sol.6 = 25% MeOH/ACN; Sol.7 = 25% ACN/MeOH; Sol.8 = 50% ACN/50% MeOH
 Sol.9 = 45% ACN/45% MeOH/10% water; Sol.10 = 25% EtOAc/MeOH; Sol.11 = 25% EtOAc/ACN; Sol.12 = EtOAc

Table S-4. Qualitative evaluation of MS/MS peak shapes observed at different laser power (%) for the analysis of all selected emerging contaminants.

Compounds	Qualitative evaluation of MS/MS peak shapes ^a									
	Exp. # 1 LP (5)	Exp. # 2 LP (10)	Exp. # 3 LP (15)	Exp. # 4 LP (20)	Exp. # 5 LP (25)	Exp. # 6 LP (30)	Exp. # 7 LP (35)	Exp. # 8 LP (40)	Exp. # 9 LP (45)	Exp. # 10 LP (50)
ATZ	GS	GS	GS	GS	GS	GS	GS	GS	GS	GS
DEA	GS	GS	GS	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S	N/S
E2	X	GS	GS	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S	N/S
EE2	X	GS	GS	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S	N/S
NOR	X	GS	GS	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S	N/S
CAF	GS	GS	GS	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S	N/S
CBZ	GS	GS	GS	GS	GS	GS	GS	GS	N/S	N/S
SMX	X	X	GS	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S	N/S
DCF	X	X	GS	GS	GS	GS	GS	GS	GS	N/S

^a GS = Gaussian and symmetric peak shape; N/S = non-Gaussian and non-symmetric peak shape
X = background noise observed only; LP = Laser power (%)

Table S-5. Qualitative evaluation of MS/MS peak shapes observed for different laser ramps (%) and duration (sec.) for the analysis of all selected emerging contaminants.

Compounds	Qualitative aspect of MS/MS peak shape ^a					
	Exp. # 1	Exp. # 2	Exp. # 3	Exp. # 4	Exp. # 5	Exp. # 6
	LR (0-30 / 0,5)	LR (0-30 / 1,0)	LR (0-30 / 1,5)	LR (0-30 / 2,0)	LR (0-30 / 2,5)	LR (0-30 / 3,0)
ATZ	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S
DEA	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S
E2	GS	GS	N/S	N/S	N/S	N/S
EE2	GS	GS	N/S	N/S	N/S	N/S
NOR	GS	GS	N/S	N/S	N/S	N/S
CAF	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S
CBZ	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S
SMX	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S
DCF	GS	GS	GS	N/S	N/S	N/S

^a GS = Gaussian and symmetric peak shape; N/S = non-Gaussian and non-symmetric peak shape
 X = background noise observed only; LR = Laser ramp (%) / duration (sec.)

Table S-6. Qualitative evaluation of MS/MS peak shapes observed for different holding time (sec.) of the laser at maximum intensity for the analysis of all selected emerging contaminants.

Compounds	Qualitative aspect of MS/MS peak shape ^a						
	Exp. # 1	Exp. # 2	Exp. # 3	Exp. # 4	Exp. # 5	Exp. # 6	Exp. # 7
	HT (0)	HT (0,5)	HT (1,0)	HT (1,5)	HT (2,0)	HT (2,5)	HT (3,0)
ATZ	GS	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
DEA	GS	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
E2	GS	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
EE2	GS	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
NOR	GS	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
CAF	GS	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
CBZ	GS	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
SMX	GS	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S
DCF	GS	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S

^a GS = Gaussian and symmetric; N/S = non-Gaussian and non-symmetric

X = background noise observed only

HT = Holding time of the laser at maximum intensity (sec.)

Table S-7. Log P (octanol-water) of target compounds [153].

Compounds	Log P (octanol-water)
ATZ	2.61
DEA	1.51
E2	4.01
EE2	3.67
NOR	2.97
CAF	-0.07
CBZ	2.45
SMX	0.89
DCF	4.51

Table S-8. Recoveries under optimized conditions for each cartridge (triplicate analysis).

Compounds	Recoveries ^a (%) ± STD							
	Exp. # 1	Exp. # 2	Exp. # 3	Exp. # 4	Exp. # 5	Exp. # 6	Exp. # 7	Exp. # 8
ATZ	91 ± 2	86 ± 2	94 ± 4	83 ± 2	54 ± 3	88 ± 1	88 ± 2	N/A
DEA	80 ± 3	84 ± 3	30 ± 2	37 ± 3	12 ± 2	77 ± 2	82 ± 3	N/A
E2	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	106 ± 4	N/A
EE2	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	104 ± 3	N/A
NOR	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	N/S	100 ± 2	N/A
CAF	N/S	100 ± 2	44 ± 2	N/S	N/S	N/S	80 ± 3	N/A
CBZ	91 ± 1	45 ± 1	106 ± 3	87 ± 1	85 ± 1	94 ± 3	92 ± 2	N/A
SMX	N/S	N/S	65 ± 4	N/S	N/S	N/S	89 ± 2	N/A
DCF	N/S	N/S	36 ± 2	N/S	77 ± 2	N/S	95 ± 3	N/A

^a Exp. #1 = Strata X ; Exp. #2 = Strata X-C; Exp. #3 = Screen C; Exp. #4 = Strata SDBL
 Exp. #5 = Strata Phenyl ; Exp. #6 = Strata C18; Exp. #7 = Strata ABW; Exp. #8 = Strata X-A
 N/S = non-Gaussian and non-symmetric peak
 N/A = data not available due to clogging problem during the loading step

Table S-9. Effect of the pH of the sample on recoveries of target analytes (triplicate analysis).

Compounds	Recoveries ^a (%) ± STD			
	Exp. # 1 pH = 2	Exp. # 2 pH = 3	Exp. # 3 pH = 5	Exp. # 4 pH = 7
ATZ	92 ± 3	90 ± 1	89 ± 2	88 ± 1
DEA	89 ± 1	63 ± 2	27 ± 3	3 ± 1
E2	110 ± 1	105 ± 1	100 ± 1	109 ± 1
EE2	102 ± 2	96 ± 4	95 ± 3	92 ± 2
NOR	100 ± 1	99 ± 3	98 ± 2	99 ± 1
CAF	82 ± 3	71 ± 3	37 ± 2	30 ± 1
CBZ	89 ± 1	92 ± 1	88 ± 1	89 ± 4
SMX	95 ± 3	54 ± 2	14 ± 4	8 ± 2
DCF	87 ± 4	86 ± 2	47 ± 3	17 ± 1

^a Washing step = 2 X 6 mL (5% MeOH/water)

Elution step = 2 X 6 mL (3% NH₄OH/MeOH)

Table S-10. Effect of different mobile phases for the washing step on recoveries of target analytes (triplicate analysis).

Compounds	Recoveries ^a (%) ± STD							
	Exp. # 1	Exp. # 2	Exp. # 3	Exp. # 4	Exp. # 5	Exp. # 6	Exp. # 7	Exp. # 8
ATZ	92 ± 2	88 ± 2	52 ± 1	10 ± 1	70 ± 2	12 ± 1	89 ± 2	86 ± 2
DEA	89 ± 1	82 ± 3	38 ± 5	3 ± 1	22 ± 1	8 ± 1	80 ± 2	79 ± 2
E2	110 ± 3	106 ± 4	70 ± 1	51 ± 2	75 ± 3	32 ± 2	N/S	N/S
EE2	102 ± 1	104 ± 3	61 ± 3	40 ± 3	70 ± 2	24 ± 3	N/S	N/S
NOR	100 ± 4	100 ± 2	66 ± 1	36 ± 2	36 ± 2	27 ± 2	N/S	N/S
CAF	82 ± 2	80 ± 3	16 ± 3	1 ± 1	51 ± 2	4 ± 1	N/S	N/S
CBZ	89 ± 2	92 ± 2	61 ± 2	18 ± 1	81 ± 3	16 ± 1	94 ± 3	86 ± 3
SMX	95 ± 1	89 ± 2	19 ± 1	5 ± 1	77 ± 3	15 ± 1	N/S	N/S
DCF	96 ± 3	95 ± 3	60 ± 2	12 ± 2	82 ± 2	22 ± 2	95 ± 2	72 ± 2

^a Exp. #1-8 = 3 X 6 mL (water at pH 2) followed by :

Exp. #1 = 2 X 6 mL (5% MeOH/water) ; Exp. #2 = 2 X 6 mL (10% MeOH/water)

Exp. #3 = 2 X 6 mL (15% MeOH/water) ; Exp. #4 = 2 X 6 mL (20% MeOH/water)

Exp. #5 = 2 X 6 mL (5% Acetone/water) ; Exp. #6 = 2 X 6 mL (10% Acetone/water)

Exp. #7 = 2 X 6 mL (10% ACN/water) ; Exp. #8 = 2 X 6 mL (20% ACN/water)

N/S = non-Gaussian and non-symmetric peak

Table S-11. Effect of different mobile phase volume for the washing step on recoveries of target analytes for triplicate analysis.

Compounds	Recoveries ^a (%) ± STD			
	Exp. # 1	Exp. # 2	Exp. # 3	Exp. # 4
ATZ	87 ± 2	88 ± 2	88 ± 2	72 ± 1
DEA	81 ± 2	82 ± 3	83 ± 2	65 ± 3
E2	N/S	106 ± 4	110 ± 2	90 ± 2
EE2	N/S	104 ± 3	102 ± 1	84 ± 3
NOR	N/S	100 ± 2	100 ± 4	60 ± 2
CAF	80 ± 2	80 ± 3	75 ± 2	30 ± 2
CBZ	90 ± 1	92 ± 2	90 ± 2	90 ± 1
SMX	90 ± 2	89 ± 2	52 ± 3	41 ± 3
DCF	95 ± 1	95 ± 3	92 ± 2	72 ± 1

^a Exp. #1-4 = 3 X 6 mL (water at pH 2) followed by :
 Exp. #1 = 1 X 6 mL (10% MeOH/water)
 Exp. #2 = 2 X 6 mL (10% MeOH/water)
 Exp. #3 = 3 X 6 mL (10% MeOH/water)
 Exp. #4 = 4 X 6 mL (10% MeOH/water)
 Elution step for Exp. #1-4 = 2 X 6 mL (3% NH₄OH/MeOH)
 N/S = non-Gaussian and non-symmetric peak

Table S-12. Effect of the loading flow rate on recoveries of target analytes for triplicate analysis.

Compounds	Recoveries ^a (%) ± STD			
	Exp. # 1	Exp. # 2	Exp. # 3	Exp. # 4
	LFR = 1 mL min. ⁻¹	LFR = 3 mL min. ⁻¹	LFR = 5 mL min. ⁻¹	LFR = 7 mL min. ⁻¹
ATZ	89 ± 1	87 ± 2	89 ± 3	88 ± 1
DEA	82 ± 2	84 ± 2	79 ± 2	74 ± 2
E2	106 ± 2	110 ± 3	102 ± 2	103 ± 2
EE2	102 ± 2	104 ± 3	100 ± 2	106 ± 3
NOR	100 ± 2	98 ± 2	100 ± 3	101 ± 2
CAF	78 ± 1	80 ± 3	77 ± 2	65 ± 2
CBZ	91 ± 3	93 ± 2	94 ± 3	92 ± 2
SMX	89 ± 2	89 ± 2	86 ± 2	70 ± 2
DCF	94 ± 2	94 ± 3	96 ± 3	93 ± 3

^a Washing step = 2 X 6 mL (10% MeOH/water)

Elution step = 2 X 6 mL (3% NH₄OH/MeOH)

LFR = Loading flow rate

Table S-13. Effect of the sample volume on recoveries of target analytes for triplicate analysis.

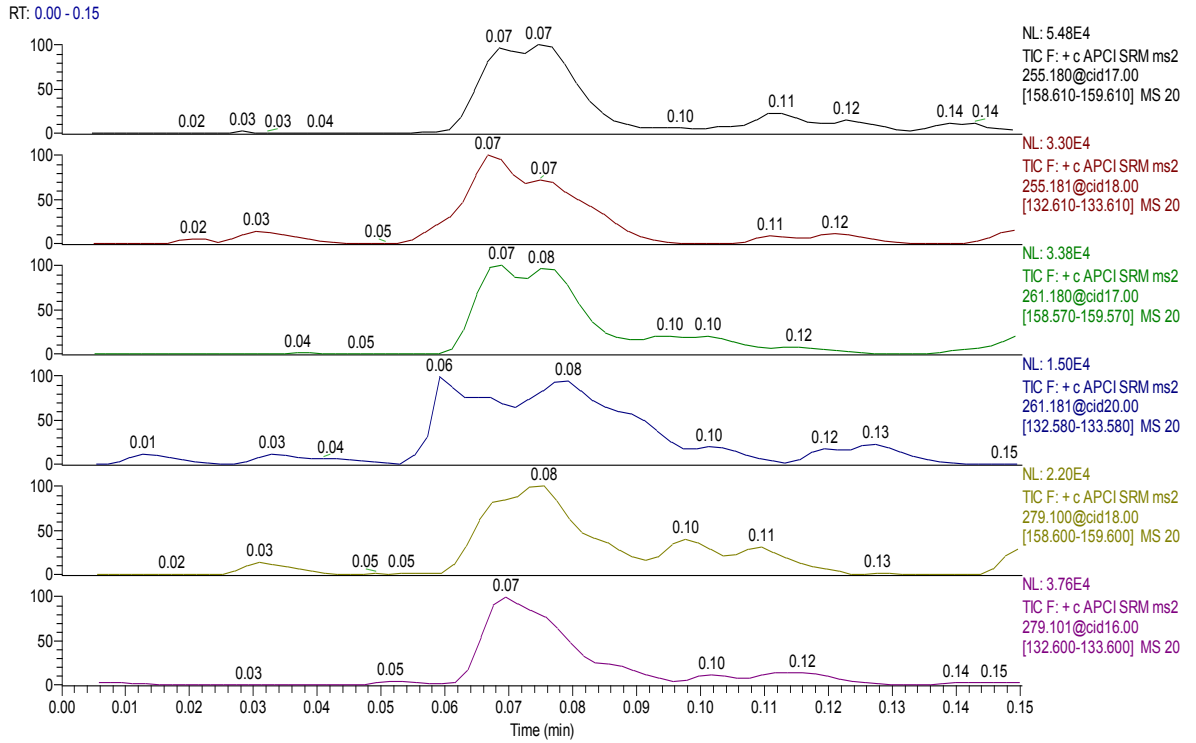
Compounds	Recoveries ^a (%) ± STD			
	Exp. # 1 SV = 250	Exp. # 2 SV = 500	Exp. # 3 SV = 750	Exp. # 4 SV = 1000
ATZ	89 ± 1	87 ± 2	88 ± 2	85 ± 2
DEA	82 ± 2	82 ± 2	78 ± 2	76 ± 3
E2	106 ± 2	106 ± 1	110 ± 1	104 ± 2
EE2	102 ± 2	100 ± 2	100 ± 2	105 ± 4
NOR	100 ± 2	96 ± 2	98 ± 2	100 ± 2
CAF	78 ± 1	80 ± 3	77 ± 2	51 ± 2
CBZ	91 ± 3	93 ± 2	94 ± 2	90 ± 3
SMX	89 ± 2	89 ± 2	86 ± 3	66 ± 2
DCF	94 ± 2	98 ± 1	96 ± 2	93 ± 3

^a Washing step = 2 X 6 mL (10% MeOH/water)

Elution step = 2 X 6 mL (3% NH₄OH/MeOH)

SV = Sample volume (mL)

Table S-14. Asymmetrical peak shapes observed when the laser power, the laser ramps or holding time of the laser were not optimized.



Chapitre 8. Conclusion

Une revue de la littérature sur la présence et l'origine des principales classes de contaminants émergents dans les eaux environnementales a été présentée aux chapitres 1 et 2. D'après les informations recueillis de la littérature scientifique, un nombre important de ces contaminants se retrouvent dans ces eaux à des concentrations de l'ordre du ng L^{-1} jusqu'au $\mu\text{g L}^{-1}$. Il a été démontré que l'exposition chronique des organismes aquatiques à ces substances contribue à l'apparition de divers phénomènes tels qu'un dérèglement hormonal, de la résistance aux antibiotiques ou aux pesticides ainsi que des impacts potentiels sur les écosystèmes situés près des points de rejet des eaux usées contaminées.

Une nouvelle méthode multi-résidus ultra-rapide basée sur la technologie LDTD/APCI-MS/MS a été présentée au chapitre 7 et a permis la quantification de 9 contaminants émergents comprenant des pesticides, des hormones et des produits pharmaceutiques. Il a été démontré que cette méthode était simple, sensible et très avantageuse pour augmenter le nombre d'analyses dans un intervalle de temps donné. Puisque cette nouvelle méthode ne nécessite pas de séparation chromatographique, elle a permis de réduire le temps total d'exécution des analyses, le nombre d'étapes de travail, la consommation de solvant et les coûts liés à l'opération et à la maintenance d'un système chromatographique. Le temps d'analyse a donc été réduit à quelques secondes par rapport à plusieurs minutes lorsqu'on compare avec l'utilisation d'un système GC-MS ou LC-MS/MS traditionnel. L'applicabilité de cette nouvelle méthode a aussi été confirmée et appliquée à des échantillons d'eaux usées d'affluent et d'effluent avec succès.

L'extraction en phase solide des échantillons s'est faite en utilisant des cartouches Strata ABW et s'est avérée très efficace. Les taux de recouvrement ont été excellents en variant entre 78 et 106%. Les courbes d'étalonnage ont démontré un bon domaine de linéarité qui a varié entre 18 à 435 mg L^{-1} . Les coefficients de détermination (R^2) obtenus ont été excellents avec des valeurs allant de 0,9913 à 0,9999. Les limites de détection (MLD) et de quantification (MLQ) calculées à partir des courbes d'étalonnage ont varié de 30 à 122 ng L^{-1} et de 88 à 370 ng L^{-1} , respectivement. La précision «intraday» et «interday»

obtenue a été satisfaisante pour tous les composés avec des CV allant, respectivement, de 2 à 9% et de 3 à 13%. Tous les composés ont été détectés dans les échantillons d'eaux usées, mais sept des neuf composés ont pu être quantifiés. En effet, l'atrazine et le DEA n'ont pu être quantifiés, car la concentration retrouvée a été $< \text{MLD}$. Les autres composés ciblés ont été détectés à des concentrations situées entre 190 et 3431 ng L^{-1} dans les échantillons d'affluent et situés entre 180 et 3125 ng L^{-1} dans les échantillons d'effluent municipaux.

Le développement de la nouvelle méthode d'analyse présentée dans ce mémoire avait comme objectif de trouver une approche plus rapide et efficace pour quantifier des contaminants émergents présents dans les eaux environnementales. Les résultats de l'article présenté au chapitre 7 ont ainsi démontré que la technologie LDTD pouvait être une alternative intéressante par rapport à un système LC-MS/MS traditionnel pour l'analyse à l'état de trace de contaminants environnementaux. Ces résultats ont aussi démontré que le processus de décantation primaire d'une station d'épuration des eaux usées ne permettait pas d'éliminer significativement les contaminants émergents ciblés dans ce projet d'étude. En effet, la concentration des composés ciblés retrouvés dans les eaux d'affluent et d'effluent était similaire.

L'apport de nos travaux de recherche pour l'analyse de contaminants à l'état de traces ne se limite pas seulement aux pesticides, aux hormones ou aux produits pharmaceutiques. En effet, l'appareil LDTD-APCI se prête théoriquement bien à l'analyse de toutes molécules organiques pouvant être désorbés thermiquement par diode laser en phase gazeuse et ionisés par une source APCI en mode positif ou négatif. On peut donc envisager d'adapter la méthode développée dans ce projet d'étude à un grand nombre de contaminants environnementaux. Grâce au développement de ce type de méthode, il sera possible d'approfondir nos connaissances sur la présence et le comportement d'autres contaminants ainsi que sur l'étude de l'élimination des contaminants émergents lors du traitement des eaux usées.

Par ailleurs, l'analyse de contaminants par spectrométrie de masse en tandem en mode SRM est connue pour sa capacité à cibler et détecter certains ions fragment spécifiques. Cette spécificité est essentielle pour l'utilisation d'un LDTD et permet

d'augmenter la sensibilité des méthodes d'analyses développées. Le développement de nouveaux instruments plus puissants pouvant être couplé avec le LDTD, tel qu'un spectromètre de masse de type Orbitrap, représente un avenir prometteur pour les recherches scientifiques visant l'identification et la détection des contaminants émergents. En effet, ce nouveau type de détecteur a la capacité de détecter directement la masse exacte à haute résolution de l'ion précurseur sans avoir recours à une fragmentation et à une détection des ions fragment comme dans la spectrométrie de masse en tandem traditionnelle. Cette nouvelle perspective pourra faciliter l'identification structurale des composés analysés, puisque la masse exacte sera détectée. Cela permettra aussi d'obtenir une plus grande sensibilité, spécificité et de minimiser la fenêtre de masse à analyser pour ainsi réduire le bruit de fond. Offrant une plus grande sélectivité et une plus grande sensibilité, l'utilisation prometteuse d'un détecteur de type Orbitrap couplé à un LDTD permettra de diminuer le facteur de concentration nécessaire pour la détection des contaminants émergents et donc des effets de matrices souvent associés aux méthodes d'analyses.

Bibliographie

- [1] D. Barcelo, *Trac-Trends Anal. Chem.*, 22 (2003) XIV.
- [2] D. Fatta-Kassinos, S. Meric, A. Nikolaou, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399 (2011) 251.
- [3] M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28 (2009) 708.
- [4] R. Rodil, J.B. Quintana, P. Lopez-Mahia, S. Muniategui-Lorenzo, D. Prada-Rodriguez, *Analytical Chemistry*, 80 (2008) 1307.
- [5] S.D. Richardson, *Analytical Chemistry*, 80 (2008) 4373.
- [6] D.L. Giokas, A. Salvador, A. Chisvert, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26 (2007) 360.
- [7] M. Schlumpf, S. Durrer, O. Faass, C. Ehnes, M. Fuetsch, C. Gaille, M. Henseler, L. Hofkamp, K. Maerkel, S. Reolon, B. Timms, J.A.F. Tresguerres, W. Lichtensteiger, *International Journal of Andrology*, 31 (2008) 144.
- [8] A.R.M. Silva, J.M.F. Nogueira, *Talanta*, 74 (2008) 1498.
- [9] J. Regueiro, M. Llompарт, E. Psillakis, J.C. Garcia-Monteagudo, C. Garcia-Jares, *Talanta*, 79 (2009) 1387.
- [10] B. Kai, *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 470.
- [11] J.L. Reiner, C.M. Wong, K.F. Arcaro, K. Kannan, *Environmental Science & Technology*, 41 (2007) 3815.
- [12] A.A.M. Stolker, U.A.T. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, 1067 (2005) 15.
- [13] N. Kemper, *Ecol. Indic.*, 8 (2008) 1.
- [14] K. Klaus, *Chemosphere*, 75 (2009) 417.
- [15] A.K. Sarmah, M.T. Meyer, A.B.A. Boxall, *Chemosphere*, 65 (2006) 725.
- [16] C. Alder Alfredo, S. McArdell Christa, M. Golet Eva, S. Ibric, E. Molnar, S. Nipales Norriell, W. Giger, *Pharmaceuticals and Care Products in the Environment (ACS Symposium Series, Vol. 791)*, American Chemical Society, 2001, p. 56.
- [17] J.J. Klawe, M. Tafil-Klawe, in: C. Editor-in-Chief: Benjamin (Ed.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*, Academic Press, Oxford, 2003, p. 247.
- [18] H.P.O. Tang, C. Ho, S.S.L. Lai, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 20 (2006) 2565.
- [19] M. Teuber, *Cell. Mol. Life Sci.*, 56 (1999) 755.
- [20] S.J. Olsen, E.E. DeBess, T.E. McGivern, N. Marano, T. Eby, S. Mauvais, V.K. Balan, G. Zirnstein, P.R. Cieslak, F.J. Angulo, *N. Engl. J. Med.*, 344 (2001) 1572.
- [21] L.B. Rice, *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (2001) 183.
- [22] S.A. Snyder, *Southwest Hydrology*, Vol. 2, No. 6 (2003) 14.
- [23] C.G. Daughton, T.A. Ternes, *Environ. Health Perspect.*, 107 (1999) 907.
- [24] W.F. Young, Whitehouse, P., Johnson, I. and Sorokin, N., *R&D Technical Report P2-T04/1*, Environmental Agency, Bristol, 2004.
- [25] K.A. Kidd, P.J. Blanchfield, K.H. Mills, V.P. Palace, R.E. Evans, J.M. Lazorchak, R.W. Flick, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104 (2007) 8897.
- [26] A. Bouman, M.J. Heineman, M.M. Faas, *Human Reproduction Update*, 11 (2005) 411.
- [27] R.J. Williams, A.C. Johnson, J.J.L. Smith, R. Kanda, *Environmental Science & Technology*, 37 (2003) 1744.

- [28] Brighty G.C., Gross-Sorokin M.Y., Science Report SC030285/SR, Environment Agency, Rio House, Waterside Drive, Aztec West, Almondsbury, Bristol, BS32 4UD, 2004.
- [29] S. Jobling, M. Nolan, C.R. Tyler, G. Brighty, J.P. Sumpter, *Environmental Science & Technology*, 32 (1998) 2498.
- [30] S.A. Snyder, P. Westerhoff, Y. Yoon, D.L. Sedlak, *Environmental Engineering Science*, 20 (2003) 449.
- [31] J. Vogel, *Policy Sciences*, 37 (2004) 277.
- [32] S. Dickerson, A. Gore, *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 8 (2007) 143.
- [33] S. Christiansen, M. Scholze, M. Dalgaard, A.M. Vinggaard, M. Axelstad, A. Kortenkamp, U. Hass, *Environ. Health Perspect.*, 117 (2009) 1839.
- [34] J. Aravindakshan, V. Paquet, M. Gregory, J. Dufresne, M. Fournier, D.J. Marcogliese, D.G. Cyr, *Toxicol. Sci.*, 78 (2004) 156.
- [35] L'Association des pharmaciens du Canada. e-CPS. [Internet]. Ottawa (ON) : Association des pharmaciens du Canada; <http://www.e-therapeutics.ca/> (consulté le 11 janvier 2011)
- [36] H.H. Tabak, & Brunch, R. L., *Developments in Industrial Microbiology*, 11 (1970) 367.
- [37] N.A. Norpoth K, Kirchner M, Holsen H, Teipel H, *Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. I. Abt. Orig. B*, 156 (1973) 500.
- [38] M. Fielding, Gibson, T.M., James, H.A., McLoughlin, K. and Steel, C.P., *Water Research Centre Technical Report TR159* (1981).
- [39] M.L. Richardson, Bowron, J.M., *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 37 (1985) 1.
- [40] R. Hirsch, T. Ternes, K. Haberer, K.-L. Kratz, *Science of the Total Environment*, 225 (1999) 109.
- [41] E.M. Golet, A.C. Alder, W. Giger, *Environmental Science & Technology*, 36 (2002) 3645.
- [42] J. Lienert, T. Burki, B.I. Escher, *Water Science and Technology*, 56 (2007) 87.
- [43] C. Mimeault, A.J. Woodhouse, X.S. Miao, C.D. Metcalfe, T.W. Moon, V.L. Trudeau, *Aquatic Toxicology*, 73 (2005) 44.
- [44] M. Cleuvers, *Chemosphere*, 59 (2005) 199.
- [45] B.W. Brooks, C.K. Chambliss, J.K. Stanley, A. Ramirez, K.E. Banks, R.D. Johnson, R.J. Lewis, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24 (2005) 464.
- [46] F. Sacher, F.T. Lange, H.-J. Brauch, I. Blankenhorn, *Journal of Chromatography A*, 938 (2001) 199.
- [47] D.A. Bright, N. Healey, *Environmental Pollution*, 126 (2003) 39.
- [48] E. Topp, S.C. Monteiro, A. Beck, B.B. Coelho, A.B.A. Boxall, P.W. Duenk, S. Kleywegt, D.R. Lapen, M. Payne, L. Sabourin, H. Li, C.D. Metcalfe, *Science of The Total Environment*, 396 (2008) 52.
- [49] F.C. Cabello, *Environ. Microbiol.*, 8 (2006) 1137.
- [50] S.R. Yates, L.L. McConnell, C.J. Hapeman, S.K. Papiernik, S. Gao, S.L. Trabue, *J. Environ. Qual.*, 40 (2011) 1347.
- [51] X. Tang, B. Zhu, H. Katou, *Journal of Environmental Sciences*, 24 (2012) 351.
- [52] Diane Sherman, United States Environmental Protection Agency, Technical Report TR161 (2006), 47.

- [53] Leonard Gianessi, Nathan Reigner, Crop Protection Research Institute, National Pesticide Use Database NPUD2002 [Internet], <http://www.croplifefoundation.org/> (consulté le 25 novembre 2010).
- [54] D. Donaldson, Kiely, T., Grube, A., Biological and Economic Analysis Division, U.S. Environmental Protection Agency, Technical report EPA-733-R-02-001 (2002) 33.
- [55] A.L. Aspelin, The National Science Foundation Center for Integrated Pest Management, Technical Bulletin 105 (2003), 48.
- [56] United States Department of Agriculture, Agricultural Chemical Use Database, Technical Bulletin 75 (2006), 34.
- [57] Kolpin D. W., Goolsby D. A., Thurman E. M., Pesticides in near-surface aquifers : an assessment using highly sensitive analytical methods and tritium, American Society of Agronomy, Madison, WI, ETATS-UNIS, 1995.
- [58] W.A. Battaglin, E.M. Thurman, S.J. Kalkhoff, S.D. Porter, JAWRA Journal of the American Water Resources Association, 39 (2003) 743.
- [59] E.A. Scribner, Thurman, E.M., Goolsby, D.A., Meyer, M. T., Battaglin, W. A., & Kolpin, D. W., US Geological Survey Scientific Investigations Report, 2005-5094 (2005) 33.
- [60] J.F. Fairchild, D.S. Ruessler, A.R. Carlson, Environmental Toxicology and Chemistry, 17 (1998) 1830.
- [61] K.R. Solomon, D.B. Baker, R.P. Richards, D.R. Dixon, S.J. Klaine, T.W. LaPoint, R.J. Kendall, C.P. Weisskopf, J.M. Giddings, J.P. Giesy, L.W. Hall, W.M. Williams, Environmental Toxicology and Chemistry, 15 (1996) 31.
- [62] W.J. Birge, Westerman, J. A., & Spromberg, J. A., In D. Sparling, G. Linder, & C. Bishop (Eds.). Ecotoxicology of amphibians and reptiles (2000) 727.
- [63] T.B. Hayes, A. Collins, M. Lee, M. Mendoza, N. Noriega, A.A. Stuart, A. Vonk, Proceedings of the National Academy of Sciences, 99 (2002) 5476.
- [64] T. Hayes, K. Haston, M. Tsui, A. Hoang, C. Haeffele, A. Vonk, Nature, 419 (2002) 895.
- [65] T. Hayes, K. Haston, M. Tsui, A. Hoang, C. Haeffele, A. Vonk, Environ. Health Perspect., 111 (2003) 568.
- [66] T.B. Hayes, BioScience, 54 (2004) 1138.
- [67] K.B. Sullivan, K.M. Spence, Environmental Toxicology and Chemistry, 22 (2003) 627.
- [68] L. Tavera-Mendoza, S. Ruby, P. Brousseau, M. Fournier, D. Cyr, D. Marcogliese, Environmental Toxicology and Chemistry, 21 (2002) 1264.
- [69] T.B. Hayes, V. Houry, A. Narayan, M. Nazir, A. Park, T. Brown, L. Adame, E. Chan, D. Buchholz, T. Stueve, S. Gallipeau, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107 (2010) 4612.
- [70] J.R. Rohr, K.A. McCoy, Environ. Health Perspect., 118 (2010) 20.
- [71] K.R. Solomon, J.A. Carr, L.H. Du Preez, J.P. Giesy, R.J. Kendall, E.E. Smith, G.J. Van Der Kraak, Critical Reviews in Toxicology, 38 (2008) 721.
- [72] M.S. Mills, E.M. Thurman, Environmental Science & Technology, 28 (1994) 73.
- [73] G. Durand, N. De Bertrand, D. Barceló, Journal of Chromatography A, 554 (1991) 233.
- [74] G. Durand, D. Barceló, Journal of Chromatography A, 502 (1990) 275.
- [75] E.M. Thurman, D.A. Goolsby, M.T. Meyer, D.W. Kolpin, Environmental Science & Technology, 25 (1991) 1794.
- [76] G.R. Hallberg, Agriculture, Ecosystems & Environment, 26 (1989) 299.

- [77] I. Heap, *Pesticide Science*, 51 (1997) 235.
- [78] G. Gadamski, Ciarka, D., Gressel, J., Gawronski, SW., *Weed Science*, 48 (2003) 176.
- [79] M. Garmouma, M. Blanchard, A. Chesterikoff, P. Ansart, M. Chevreuil, *Water Research*, 31 (1997) 1489.
- [80] D.M. Revitt, J.B. Ellis, N.R. Llewellyn, *Urban Water*, 4 (2002) 13.
- [81] E. Bichon, M. Dupuis, B. Le Bizec, F. Andre, *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 838 (2006) 96.
- [82] M. Devine, *Physiology of herbicide action / Malcolm Devine, Stephen O. Duke, Carl Fedtke, P T R Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J. ., 1993.*
- [83] J.M. Giddings, Anderson, T.A., Hall, L.W., Jr, Kendall, R.J., Richards, R.P., Solomon, K.R., Williams, W.M., Pensacola, FL: SETAC Press. (2005).
- [84] D.L. Brockway, P.D. Smith, F.E. Stancil, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 32 (1984) 345.
- [85] J.A. Hamala, H.P. Kollig, *Chemosphere*, 14 (1985) 1391.
- [86] K.D. Hoagland, R.W. Drenner, J.D. Smith, D.R. Cross, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12 (1993) 627.
- [87] S.M. Ternes T.A., Schuppert B., Haberer K., *Vom Wasser*, 90 (1998) 295.
- [88] S. Öllers, H.P. Singer, P. Fässler, S.R. Müller, *Journal of Chromatography A*, 911 (2001) 225.
- [89] I. Rodríguez, J.B. Quintana, J. Carpinteiro, A.M. Carro, R.A. Lorenzo, R. Cela, *Journal of Chromatography A*, 985 (2003) 265.
- [90] W. Ahrer, E. Scherwenk, W. Buchberger, *Journal of Chromatography A*, 910 (2001) 69.
- [91] S. Marchese, A. Gentili, D. Perret, G.D. Ascenzo, F. Pastori, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 17 (2003) 879.
- [92] X.-S. Miao, B.G. Koenig, C.D. Metcalfe, *Journal of Chromatography A*, 952 (2002) 139.
- [93] J. Carpinteiro, J.B. Quintana, I. Rodríguez, A.M. Carro, R.A. Lorenzo, R. Cela, *Journal of Chromatography A*, 1056 (2004) 179.
- [94] J. Xu, L.S. Wu, W.P. Chen, A.C. Chang, *Journal of Chromatography A*, 1202 (2008) 189.
- [95] M. Petrović, M.D. Hernando, M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló, *Journal of Chromatography A*, 1067 (2005) 1.
- [96] M. Tagiri-Endo, S. Suzuki, T. Nakamura, T. Hatakeyama, K. Kawamukai, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393 (2009) 1367.
- [97] L. Viglino, K. Aboulfadl, M. Prévost, S. Sauvé, *Talanta*, 76 (2008) 1088.
- [98] A.A. Kampioti, A.C. Borba da Cunha, M. López de Alda, D. Barceló, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382 (2005) 1815.
- [99] D. Fatta, A. Achilleos, A. Nikolaou, S. Meriç, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26 (2007) 515.
- [100] A. Peck, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 386 (2006) 907.
- [101] M.J. Gómez, A. Agüera, M. Mezcuca, J. Hurtado, F. Mocholí, A.R. Fernández-Alba, *Talanta*, 73 (2007) 314.
- [102] R.J.C.A. Steen, A.C. Hogenboom, P.E.G. Leonards, R.A.L. Peerboom, W.P. Cofino, U.A.T. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, 857 (1999) 157.
- [103] M. Farré, M. Petrovic, M. Gros, T. Kosjek, E. Martinez, E. Heath, P. Osvald, R. Loos, K. Le Menach, H. Budzinski, F. De Alencastro, J. Müller, T. Knepper, G. Fink, T.A.

- Ternes, E. Zuccato, P. Kormali, O. Gans, R. Rodil, J.B. Quintana, F. Pastori, A. Gentili, D. Barceló, *Talanta*, 76 (2008) 580.
- [104] M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24 (2005) 645.
- [105] V. Gabet, C. Miège, P. Bados, M. Coquery, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26 (2007) 1113.
- [106] M.C. Pietrogrande, G. Basaglia, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26 (2007) 1086.
- [107] J. Radjenović, M. Petrović, D. Barceló, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26 (2007) 1132.
- [108] M. Gros, M. Petrović, D. Barceló, *Talanta*, 70 (2006) 678.
- [109] M. Petrovic, M. Gros, D. Barcelo, *Journal of Chromatography A*, 1124 (2006) 68.
- [110] M.J. Gómez, M. Petrović, A.R. Fernández-Alba, D. Barceló, *Journal of Chromatography A*, 1114 (2006) 224.
- [111] B. Kasprzyk-Hordern, R. Dinsdale, A. Guwy, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391 (2008) 1293.
- [112] M.J. Martínez Bueno, A. Agüera, M.J. Gómez, M.D. Hernando, J.F. García-Reyes, A.R. Fernández-Alba, *Analytical Chemistry*, 79 (2007) 9372.
- [113] K. Reddersen, T. Heberer, *Journal of Separation Science*, 26 (2003) 1443.
- [114] P. Valérie, *Journal of Chromatography A*, 885 (2000) 195.
- [115] M. Polo, C. Garcia-Jares, M. Llompart, R. Cela, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388 (2007) 1789.
- [116] J. Regueiro, E. Becerril, C. Garcia-Jares, M. Llompart, *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 4693.
- [117] N. Negreira, I. Rodríguez, M. Ramil, E. Rubí, R. Cela, *Analytica Chimica Acta*, 638 (2009) 36.
- [118] J. Chen, J.B. Pawliszyn, *Analytical Chemistry*, 67 (1995) 2530.
- [119] E.A. Suchara, D. Budziak, E. Martendal, L.L.F. Costa, E. Carasek, *Analytica Chimica Acta*, 613 (2008) 169.
- [120] L. Brossa, R.M. Marcé, F. Borrull, E. Pocurull, *Chromatographia*, 61 (2005) 61.
- [121] H.J. Stan, T. Heberer, *Analisis*, 25 (1997) M20.
- [122] T. Heberer, *Toxicology Letters*, 131 (2002) 5.
- [123] A.M. Stolker, W. Niesing, E. Hogendoorn, J.M. Versteegh, R. Fuchs, U.T. Brinkman, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378 (2004) 955.
- [124] M. Himmelsbach, W. Buchberger, C.W. Klampfl, *ELECTROPHORESIS*, 27 (2006) 1220.
- [125] A. Pérez-Parada, M.d.M. Gómez-Ramos, M. Martínez Bueno, S. Uclés, A. Uclés, A. Fernández-Alba, *Environmental Science and Pollution Research* 1.
- [126] S. Pérez, D. Barceló, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26 (2007) 494.
- [127] M. Kostopoulou, A. Nikolaou, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27 (2008) 1023.
- [128] I. González-Mariño, J.B. Quintana, I. Rodríguez, R. Cela, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23 (2009) 1756.
- [129] M. Pedrouzo, F. Borrull, R.M. Marcé, E. Pocurull, *Journal of Chromatography A*, 1216 (2009) 6994.
- [130] B. Kasprzyk-Hordern, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy, *Water Research*, 42 (2008) 3498.
- [131] Phyttronix Technologies Inc., <http://ldtd.phyttronix.com/> (consulté le 5 janvier 2011).
- [132] P.B. Fayad, M. Prevost, S. Sauve, *Analytical Chemistry*, 82 (2010) 639.

- [133] K. Badjagbo, A. Furtos, M. Alae, S. Moore, S. Sauve, *Analytical Chemistry*, 81 (2009) 7288.
- [134] R.J. Beuhler, E. Flanigan, L.J. Greene, L. Friedman, *Journal of the American Chemical Society*, 96 (1974) 3990.
- [135] G.D. Daves, *Accounts Chem. Res.*, 12 (1979) 359.
- [136] D.I. Carroll, I. Dzidic, R.N. Stillwell, K.D. Haegele, E.C. Horning, *Analytical Chemistry*, 47 (1975) 2369.
- [137] E.C. Horning, M.G. Horning, D.I. Carroll, I. Dzidic, R.N. Stillwell, *Analytical Chemistry*, 45 (1973) 936.
- [138] E.C. Horning, D.I. Carroll, I. Dzidic, S.N. Lin, R.N. Stillwell, J.P. Thenot, *Journal of Chromatography A*, 142 (1977) 481.
- [139] Y.-C. Ma, H.-Y. Kim, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 8 (1997) 1010.
- [140] R.B. Geerdink, A. Kooistra-Sijpersma, J. Tiesnitsch, P.G.M. Kienhuis, U.A.T. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, 863 (1999) 147.
- [141] R. Dams, T. Benijts, W. Günther, W. Lambert, A.D. Leenheer, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 16 (2002) 1072.
- [142] V. Sinha, T.G. Custer, T. Kluepfel, J. Williams, *International Journal of Mass Spectrometry*, 282 (2009) 108.
- [143] B.K. Matuszewski, M.L. Constanzer, C.M. Chavez-Eng, *Analytical Chemistry*, 75 (2003) 3019.
- [144] L.L. Jessome, D.A. Volmer, *Liquid chromatography - Gas chromatography North America.*, 24 (2006) 498.
- [145] M. Petrović, M.D. Hernando, M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló, *Journal of Chromatography A*, 1067 (2005) 1.
- [146] S. Castiglioni, R. Bagnati, D. Calamari, R. Fanelli, E. Zuccato, *Journal of Chromatography A*, 1092 (2005) 206.
- [147] H.-B. Lee, K. Sarafin, T.E. Peart, *Journal of Chromatography A*, 1148 (2007) 158.
- [148] H.-B. Lee, T.E. Peart, M.L. Svoboda, *Journal of Chromatography A*, 1094 (2005) 122.
- [149] J. Wu, C.S. Hughes, P. Picard, S. Letarte, M. Gaudreault, J.-F. Lévesque, D.A. Nicoll-Griffith, K.P. Bateman, *Analytical Chemistry*, 79 (2007) 4657.
- [150] L. Viglino, M. Prevost, S. Sauvé, *Journal of Environmental Monitoring*, 13 (2011) 583.
- [151] P.A. Segura, P. Tremblay, P. Picard, C. Gagnon, S. Sauvé, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (2010) 1442.
- [152] ICH Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). <http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA417.pdf> (consulté le 25 février 2011).
- [153] Syracuse Research Corporation. <http://www.http://srcinc.com> (consulté le 30 janvier 2011).

