

Université de Montréal

Dégradation chimique et biologique de neuf contaminants émergents dans les eaux de surfaces et les effluents primaires d'eaux usées municipales

Guillaume Cormier

Département de Chimie

Faculté des Arts et des Sciences

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

Avril 2014

©, Guillaume Cormier, 2014

Université de Montréal

Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Dégradation chimique et biologique de neuf contaminants émergents dans les eaux de surfaces et les effluents primaires d'eaux usées municipales

Présenté par :

Guillaume Cormier

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Pr. Karen Waldron, président-rapporteur

Pr. Sébastien Sauvé, directeur de recherche

Pr. Patrick Hayes, membre du jury

Résumé

Un protocole inspiré du test de simulation 309 de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) nous a permis de mesurer la dégradation chimique (excluant la photolyse) dans des eaux de surface de même que la dégradation chimique et biologique de neuf contaminants émergents dans l'effluent d'un décanteur primaire d'eau usée municipale. Les données étaient compatibles avec le modèle de cinétique de pseudo ordre un. Les résultats démontrant une persistance de plus d'un an dans les eaux de surface et de 71 jours dans l'effluent du décanteur primaire suggèrent que les dégradations chimique et biologique ne contribuent pas significativement à la diminution de: atrazine, déséthylatrazine, carbamazépine et diclofénac dans la phase aqueuse des systèmes testés. Les autres composés se sont dégradés à différents niveaux. Le 17 β -estradiol ainsi que l'éthinylestradiol, la noréthindrone, la caféine et le sulfaméthoxazole ont tous été sujet à la dégradation biologique dans les effluents du décanteur primaire d'eau usée avec des constantes de dégradation k et des demi-vies $t_{1/2}$ mesurées allant respectivement de 0.0082 à 0.59 j^{-1} et de 1.2 à 85 jours. Les paramètres de cinétique mesurés peuvent être combinés aux concentrations typiques des composés à l'étude dans un décanteur primaire d'eau usée pour y calculer leur vitesse de dégradation. Cependant, puisque les décanteurs primaires dans les usines de traitement d'eaux usées ont généralement des temps de résidence de quelques heures seulement, il est improbable que les neuf contaminants émergents à l'étude diminuent significativement par ces processus durant leur passage dans le compartiment.

Mots-clés : dégradation biologique, dégradation chimique, dégradation, contaminants émergents, eau, eau usée, LDTD-APCI-MS/MS

Abstract

A protocol inspired by the OECD 309 simulation test allowed us to measure the chemical (excluding photolysis) degradation in surface waters as well as the chemical and biological degradation potential of 9 emerging contaminants in urban primary settling tank (PST) effluents. The data confirmed that a pseudo first order kinetic model provided a good fit. The results suggest that chemical and biological degradation will not significantly contribute to the disappearance of atrazine, desethylatrazine, carbamazepine and sulfamethoxazole in the aqueous phase of the tested systems given the reported persistency of more than a year in surface waters and 71 days in PST effluents. Other compounds were more easily degraded and 17 β -estradiol, ethinylestradiol, norethindrone, caffeine and sulfamethoxazole were all amenable to biological degradation in PST effluents, with measured degradation rate constants k and half-lives ranging respectively from 0.0082-0.59 d⁻¹ and 1.2-85 days. Since PSTs in WWTPs generally have a water residence time of a few hours and considering the typical concentrations of such ECs' in those compartments, it is unlikely that significant disappearance will occur during their passage through the PST.

Keywords: biological degradation, chemical degradation, degradation, emerging contaminants, water, wastewater, LDTD-APCI-MS/MS

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Liste des tableaux	ix
Liste des figures	x
Liste des abréviations, des sigles et des acronymes	xv
Remerciements	xix
1. Introduction	1
1.1. Objectif du projet de maîtrise	1
1.1.1. Structure du mémoire de maîtrise	1
1.2. Contaminants émergents dans les systèmes aquatiques	2
1.2.1. Produits pharmaceutiques	2
1.2.2. Hormones	4
1.2.3. Antibiotiques	7
1.2.4. Produits de soins personnels	8
1.2.5. Pesticides.....	9
1.2.6. Autres	11
1.3. Contaminants émergents sélectionnés dans le cadre du projet de maîtrise	11
1.3.1. Description des composés	11
1.3.1.a. Atrazine	11
1.3.1.b. Déséthylatrazine.....	13
1.3.1.c. 17 β -Estradiol.....	14
1.3.1.d. 17 α -Éthinylestradiol	15
1.3.1.e. Noréthindrone	16
1.3.1.f. Carbamazépine	17
1.3.1.g. Caféine	18
1.3.1.h. Sulfaméthoxazole	20
1.3.1.i. Diclofénac	21
1.3.2. Le peu de données de dégradation en milieux aquatiques : la problématique	23
1.3.2.a. Atrazine et Déséthylatrazine	23
1.3.2.b. 17 β -Estradiol, 17 α -Éthinylestradiol et Noréthindrone	24
1.3.2.c. Carbamazépine.....	25
1.3.2.d. Caféine	26
1.3.2.e. Sulfaméthoxazole.....	26
1.3.2.f. Diclofénac	27
1.4. Types d'eau sélectionnés dans le cadre du projet de maîtrise	27

1.5. Techniques utilisées pour quantifier les contaminants émergents dans l'eau	28
1.5.1. Chromatographie liquide couplée au spectromètre de masse	28
1.5.2. Technique et méthode analytique utilisée dans le cadre du projet de maîtrise	29
1.6. Introduction à la technique LDTD-APCI-MS/MS.....	30
1.6.1. Principes de fonctionnement du LDTD	31
1.6.1.a. Préparation de l'échantillon et échantillonneur.....	31
1.6.1.b. Désorption thermique par diode laser infrarouge.....	32
1.6.1.c. Ionisation chimique à pression atmosphérique.....	33
1.6.2. Optimisation des paramètres LDTD	34
1.6.2.a. Solvant de reconstitution et volume de déposition.....	34
1.6.2.b. Paramètres de la diode laser	34
1.6.2.c. Autres	35
1.6.3. Principes du spectromètre de masse triple quadripôle (MS/MS).....	35
1.6.3.a. Généralités.....	35
1.6.4. Description de la méthode analytique utilisée LDTD-APCI-MS/MS	36
2. Mise en place du protocole expérimental	40
2.1. Choix de la méthode standardisée pour les études de dégradation biologique	41
2.1.1. Test de biodégradabilité facile	41
2.1.2. Test de biodégradabilité intrinsèque	42
2.1.3. Test de simulation : la méthode choisie	42
2.2. Tests préliminaires.....	43
2.2.1. Solvant de déposition pour le LDTD-APCI-MS/MS.....	43
2.2.2. Volume de déposition	45
2.2.3. Optimisation de l'analyse du diclofénac (DCF).....	47
2.2.3.a. Optimisation des paramètres analytiques.....	48
2.2.3.b. pH des solutions de déposition LDTD	49
2.2.3.c. Revêtement de EDTA sur la cavité des puits LDTD.....	51
2.2.4. Choix de la bouteille	53
2.2.5. Facteur de correction pour le barbotage des systèmes à l'air.....	56
2.3. Inhibition de la flore bactérienne	57
2.3.1. Stériliser un milieu complexe sans en altérer la chimie et l'analyse des composés : la problématique.....	57
2.3.1.a. Stérilisation versus désinfection.....	58
2.3.2. Agents physiques	59
2.3.2.a. La température et la pression	59
2.3.2.b. Les radiations.....	60
2.3.2.c. L'élimination mécanique : la méthode choisie pour les expériences #I et #II	60

2.3.3. Agents chimiothérapeutiques	61
2.3.3.a. Les antibiotiques	61
2.3.4. Agents chimiques.....	62
2.3.4.a. Les oxydants.....	62
2.3.4.b. Les phénols et aldéhydes.....	62
2.3.4.c. Le cas de l'azoture de sodium, NaN_3	62
2.3.4.d. Les métaux traces : la méthode choisie pour l'expérience #IV.....	63
2.3.5. Mise en place du protocole expérimental pour l'inhibition de la flore bactérienne par l'ajout de nitrate d'argent et de sulfate de cuivre.....	63
2.3.5.a. Les concentrations à ajouter.....	63
2.3.5.b. Maximiser les formes libres Ag^+ et Cu^{2+}	66
2.3.5.c. Tests préliminaires	67
2.4. Revue de la méthode standardisée 309 de l'OCDE	69
2.4.1. Applicabilité de l'essai.....	69
2.4.2. Composé à l'essai.....	69
2.4.3. Processus en compétition.....	71
2.4.3.a. Sorption et photolyse.....	71
2.4.3.b. Toxicité des composés à l'égard des communautés microbiennes	71
2.4.4. Critères de qualité	74
2.4.4.a. Pourcentage de récupération.....	74
2.4.4.b. Réplicabilité.....	75
2.4.4.c. Estimation des limites de détection et de quantification	76
2.4.5. Échantillonnage, échantillons et conditions expérimentales.....	79
2.4.5.a. Procédé semi-continu et substance de référence	79
2.4.5.b. Transport et stockage de l'eau.....	80
2.4.5.c. Solutions mères et ajout du composé dans le milieu à l'étude	80
2.4.5.d. Volume des systèmes à l'étude.....	81
2.4.5.e. Température d'incubation.....	81
2.4.5.f. Agitation durant l'incubation	82
2.4.5.g. Prélèvement des aliquotes et fréquence de quantification	82
2.4.5.h. Caractérisation des milieux à l'étude	83
2.4.6. Analyse chimique, traitement des données, interprétation et rapport	85
2.4.6.a. Confirmation de l'ordre un.....	86
2.4.6.b. Points de mesure nécessaires à l'estimation de la constante de vitesse	87
3. Dégradation chimique et biologique de neuf contaminants émergents dans les eaux de surfaces et les effluents primaires d'eaux usées municipales.....	89
Abstract.....	90

3.1. Introduction	90
3.2. Materials and Methods	92
3.2.1. Chemicals, reagent and stock solutions	92
3.2.2. Water studied & characterisation.....	94
3.2.3. Sample preparation & analytical methods	96
3.2.4. Laboratory bench-scale experiments.....	97
3.2.4.a. <i>Common procedures to all studied systems and analytes</i>	97
3.2.4.b. <i>Procedures unique to specified systems</i>	97
3.3. Results and Discussion	99
3.3.1. Water characterisation.....	99
3.3.2. Determination of rate constants for compound degradation	99
3.3.3. First order kinetic validity.....	100
3.3.4. Sorption.....	101
3.3.5. Persistence.....	101
3.3.5.a. <i>Atrazine (ATZ) & Desethylatrazine (DEA)</i>	102
3.3.5.b. <i>Carbamazepine (CBZ)</i>	103
3.3.5.c. <i>Diclofenac (DCF)</i>	104
3.3.6. Compound degradation	105
3.3.6.a. <i>Microbial adaptation periods – Compound lag phases</i>	105
3.3.6.b. <i>Estradiol (E2), ethinylestradiol (EE2) and norethindrone (NOR)</i>	108
3.3.6.c. <i>Caffeine</i>	108
3.3.6.d. <i>Sulfamethoxazole</i>	109
3.4. Conclusion	110
Acknowledgements	111
Appendix A. Supplementary Material	111
4. Conclusion	113
Références	116
Annexe B	125
Résultats des cinétiques de l'expérience I.....	125
Résultats des cinétiques de l'expérience II	128
Résultats des cinétiques de l'expérience III	130
Résultats des cinétiques de l'expérience IV	133
Concentrations publiées des composés à l'étude dans différents milieux aquatiques	136
Dégradation dans les milieux aquatiques rapportée dans la littérature	141

Liste des tableaux

Tableau I-1 Paramètres LDTD pour la quantification des neufs composés à l'étude en mode d'ionisation positive (+) par la LDTD-APCI-MS/MS	37
Tableau I-2 Méthodes LDTD et étalons internes associés aux analytes pour leur quantification par la LDTD-APCI-MS/MS	38
Tableau I-3 Paramètres MS/MS pour la quantification des neufs composés à l'étude en mode d'ionisation positif (+) par la LDTD-APCI-MS/MS	39
Tableau II-1 Combinaisons évaluées pour améliorer l'analyse du diclofénac (n=6)	48
Tableau II-2 Aire des pics et écart-type relatif de la méthode originelle [1] par rapport à la nouvelle méthode choisie pour SMX, DCF et leur composé marqué SMX* et DCF* (n=6).....	49
Tableau II-3 Effet du pH de la solution de déposition dans le puits LDTD sur l'aire du pic (u.a.) du diclofénac et son « <i>response ratio</i> » (n=8)	50
Tableau II-4 Effet du pH de la solution de déposition dans le puits LDTD sur l'aire du pic du diclofénac et son « <i>response ratio</i> » (n=4).....	50
Tableau II-5 Solubilité du nitrate d'argent et du sulfate de cuivre dans l'eau.....	64
Tableau II-6 Pourcentage d'inhibition d'espèces bactériennes à différentes concentrations et formes d'argent dans un bioréacteur [135]	65
Tableau II-7 Principales espèces chimiques inorganiques du cuivre se retrouvant dans une eau de surface typique selon le pH [140]. Les conditions rédox n'influencent pas les formes principales du cuivre à un même pH.....	66
Tableau II-8 Les espèces chimiques de l'argent et du cuivre mesurées dans des eaux douces dopées en cations métalliques à 50 nM et composées de 5×10^{-4} M en carbonates, de 2×10^{-4} M en chlorures et de 1×10^{-4} M en sulfates [141].	67
Tableau II-9 Effet du pH du système aquatique sur la charge des composés à l'étude en fonction de leur pKa respectif où N = neutre, (+) = protoné et (-) déprotoné.....	70
Tableau II-10 Pourcentage de récupération de la méthode pour l'effluent du décanteur d'eau usée brute (expériences #III-IV) pour une concentration ajoutée de $200 \mu\text{g L}^{-1}$	74
Tableau II-11 Résultats du test de réplicabilité de la méthode sur l'effluent du décanteur d'eau usée.	75
Tableau II-12 Limites de détection et de quantification (estimations) de la méthode pour neufs composés dans les eaux à l'étude et comparaison avec l'eau distillée. Le chiffre après les noms représente le rapport m/z ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de l'ion fragment choisi.	79
Tableau II-13 Caractéristiques biologiques de l'eau de l'expérience #IV à T_0 et à $T = 38$ jours	84
Table III-1 Studied compounds, physical properties & classification by Ney [142].....	93
Table III-2 Kinetic experiments assessed.....	94
Table III-3 Characterisation of water samples.....	99
Table III-4 Lag phases (L_p), pseudo first order disappearance rate constants (k) & half-lives ($t_{1/2}$) \pm standard deviation of duplicate incubations.....	107
Tableau B-1 Valeurs publiées de concentrations des pesticides à l'étude retrouvés dans les affluents et effluents d'eaux usées en ng L^{-1}	136
Tableau B-2 Valeurs publiées de concentrations d'hormones à l'étude retrouvées dans les affluents et effluents d'eaux usées en ng L^{-1}	136
Tableau B-3 Valeurs publiées de concentrations des autres contaminants émergents à l'étude retrouvés dans les affluents et effluents d'eaux usées en ng L^{-1}	137
Tableau B-4 Valeurs publiées de concentrations des pesticides à l'étude retrouvés dans les eaux de surface en ng L^{-1}	137
Tableau B-5 Valeurs publiées de concentrations d'hormones à l'étude retrouvées dans les eaux de surface en ng L^{-1}	138

Tableau B-6 Valeurs publiées de concentrations des autres contaminants émergents à l'étude retrouvés dans les eaux de surface en ng L ⁻¹	139
Tableau B-7 Valeurs publiées de concentrations des contaminants émergents à l'étude retrouvés dans l'eau potable en ng L ⁻¹	140
Tableau B-8 Données de dégradation pour les neufs contaminants émergents rapportées dans la littérature	141

Liste des figures

Figure 1.1 Principales catégories d'hormones (selon leur structure), sous-catégories et hormones à l'étude dans le cadre du projet.....	4
Figure 1.2 Structure commune aux hormones stéroïdiennes estrogènes.....	5
Figure 1.3 Structure de l'atrazine (ATZ)	11
Figure 1.4 Structure de la déséthylatrazine (DEA)	14
Figure 1.5 Structure du 17 β -estradiol (E2)	15
Figure 1.6 Structure de l'éthinylestradiol (EE2)	16
Figure 1.7 Structure de la noréthindrone (NOR).....	17
Figure 1.8 Structure de la carbamazépine (CBZ).....	18
Figure 1.9 Structure de la caféine (CAF).....	19
Figure 1.10 Structure du sulfaméthoxazole (SMX)	20
Figure 1.11 Structure du diclofénac (DCF).....	22
Figure 1.12 Appareil LDTD-APCI utilisé dans le cadre du projet de maîtrise.....	31
Figure 1.13 Insertion de plaques LDTD dans l'échantillonneur. Ce dernier peut contenir jusqu'à 10 plaques, pour un total possible de 960 analyses par séquence analytique	32
Figure 1.14 Schéma de la source LDTD-APCI en section transversale.	32
Figure 1.15 Pics de désorption de a) Caféine (Ion parent [M+H] ⁺ de m/z = 195 et ion fragment [M+H] ⁺ de m/z = 138) et b) Carbamazépine (Ion parent [M+H] ⁺ de m/z = 237 et ion fragment [M+H] ⁺ de m/z = 194), dans l'effluent du décanteur primaire d'eau usée dopé en analytes à 400 μ g L ⁻¹ . NL représente l'intensité normalisée du pic (u.a.).	37
Figure 2.1 Aire des pics (u.a.) pour des solutions de ATZ, DEA, SMX et DCF reconstituées dans différentes matrices à 150 μ g L ⁻¹ . Les barres d'erreurs représentent l'écart-type sur la mesure (n = 5), et le chiffre après le nom du composé représente le rapport m/z ([M+H] ⁺) de l'ion fragment choisi.	44
Figure 2.2 Résultats des aires des pics (u.a.) des neufs composés en fonction du volume de déposition pour différentes matrices d'eau. Les barres d'erreur représentent l'écart-type sur la mesure (n=5) et le chiffre après le nom du composé représente le rapport m/z ([M+H] ⁺) de l'ion fragment choisi.....	46
Figure 2.3 Structure de l'acide éthylène diamine tétracétique (EDTA).....	51
Figure 2.4 Aire des pics (u.a.) d'ATZ, DEA, SMX et DCF avec et sans revêtement de EDTA. Les barres d'erreurs représentent l'écart-type sur la mesure (n=5) et le chiffre après le nom du composé représente le rapport m/z ([M+H] ⁺) de l'ion fragment choisi.	52
Figure 2.5 Response ratio (u.a.) pour le diclofénac à une concentration de 200 μ g L ⁻¹ dans une eau brute avec et sans utilisation du revêtement d'EDTA dans la cavité du puits LDTD. Les barres d'erreur représentent l'écart-type sur la mesure (n=5).	53
Figure 2.6 Réaction de silanisation du verre (SiO ₂) par le diméthylchlorosilane [113].....	54
Figure 2.7 Pertes de composés par sorption sur les parois internes de bouteilles après 14 jours d'incubation à 4 et 20 °C pour une concentration initiale de \approx 400 μ g L ⁻¹ dans l'eau distillée où VAS = verre ambré silanisé, VA = verre ambré et HDPE = polyéthylène à haute densité. Les barres d'erreur représentent l'écart-type relatif sur la mesure (n=3) par bouteille.	55

Figure 2.8 Comparaison entre l'aire des pics (u.a.) des neufs composés à l'étude \pm SD (n=5) pour des concentrations de 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans l'effluent du décanteur primaire d'eau usée brute et dans la même matrice acidifié à pH 4.5 à l'acide formique dans laquelle 150 μM de CuSO_4 et 150 μM de AgNO_3 ont été ajoutés.	67
Figure 2.9 Comparaison entre le RR (u.a.) des neufs composés à l'étude \pm SD (n=5) pour des concentrations de 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans l'effluent du décanteur primaire d'eau usée brute et dans la même matrice acidifié à pH = 4.5 à l'acide formique dans laquelle 150 μM de CuSO_4 et de AgNO_3 ont été ajoutés.	68
Figure 2.10 Évolution de la concentration de E2, EE2 et NOR dans l'effluent d'un décanteur primaire dans le temps avec et sans la présence de 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ de SMX. Les barres d'erreurs n'ont pas été incluses pour faciliter l'interprétation des résultats.	73
Figure 2.11 Profil de désorption de ATZ pour l'ion fragment de $m/z = 132$ (m/z de l'ion parent $[\text{M}+\text{H}]^+ = 216$) dans un blanc (eau brute filtrée 0.45 μm), où NL est l'intensité normalisée du pic le plus élevé (u.a.).	77
Figure 2.12 Pic de désorption de ATZ pour l'ion fragment de $m/z = 132$ (m/z de l'ion parent $[\text{M}+\text{H}]^+ = 216$) dans une eau brute filtrée 0.45 μm dopée en analytes à 4 $\mu\text{g L}^{-1}$, où NL est l'intensité normalisée du pic le plus élevé (u.a.).	78
Figure 2.13 Pic de désorption de ATZ pour l'ion fragment de $m/z = 132$ (m/z de l'ion parent $[\text{M}+\text{H}]^+ = 216$) dans une eau brute filtrée 0.45 μm dopée en analytes à 1.5 $\mu\text{g L}^{-1}$, où NL est l'intensité normalisée du pic le plus élevé (u.a.).	78
Figure 3.1 Residual atrazine (%) over time (days) in different water systems with an initial spiked concentration of 400 $\mu\text{g L}^{-1}$. Error bars represent relative standard deviation of duplicates measurements. Similar results (see Annexe B) were obtained for Exp I4 (Figure B.1), III4 (Figure B.19), IV4 and controls CIV4 & CIV21 (Figure B.28) and were omitted here to ease the graphical representation.	102
Figure 3.2 Residual carbamazepine (%) over time (days) in different water systems with an initial spiked concentration of 400 $\mu\text{g L}^{-1}$. Error bars represent relative standard deviation on duplicates measurements. Similar results (see Annexe B) were obtained for Exp I4 (Figure B.6), III4 (Figure B.24), IV4 and controls CIV4 & CIV21 (Figure B.33) and were omitted here to ease the graphical representation.	104
Figure 3.3 Residual caffeine and sulfamethoxazole (%) over time (days) in different water systems with an initial spiked concentration of 400 $\mu\text{g L}^{-1}$. Error bars represent relative standard deviation on duplicate measurements.	109
Figure 3.4 Kinetic models as a function of initial compound concentration and bacterial cell density according to [177]	111
Figure 3.5 First-order kinetic plot for the degradation of [caffeine] initially spiked at 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ over time (days) in a raw PST effluent at 4°C. The solid line represents the linear regression of the measured data (including analytical variability of n=3) with its related equation and coefficient of determination (R^2).	112
Figure B.1 Atrazine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	125
Figure B.2 Déséthylatrazine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	125
Figure B.3 17 β -estradiol résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps	

(jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.....	125
Figure B.4 17 α -éthynylestradiol résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.....	126
Figure B.5 Noréthindrone résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.....	126
Figure B.6 Carbamazépine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.....	126
Figure B.7 Caféine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.....	127
Figure B.8 Sulfaméthoxazole (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.....	127
Figure B.9 Diclofénac résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.....	127
Figure B.10 Atrazine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	128
Figure B.11 Déséthylatrazine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.....	128
Figure B.12 17 β -estradiol résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	128
Figure B.13 17 α -éthynylestradiol résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.....	128
Figure B.14 Noréthindrone résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	128
Figure B.15 Caféine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du	

temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	128
Figure B.16 Diclofénac résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 µm, aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 µg L ⁻¹ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	129
Figure B.17 Carbamazépine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 µm, aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 µg L ⁻¹ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	129
Figure B.18 Sulfaméthoxazole résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 µm, aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 µg L ⁻¹ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	129
Figure B.19 Atrazine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	130
Figure B.20 Déséthylatrazine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	130
Figure B.21 17β-estradiol résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	130
Figure B.22 17β-éthinyloestradiol résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	131
Figure B.23 Noréthindrone résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	131
Figure B.24 Carbamazépine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	131
Figure B.25 Caféine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	132
Figure B.26 Sulfaméthoxazole résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	132
Figure B.27 Diclofénac résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C)	

en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	132
Figure B.28 Atrazine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	133
Figure B.29 Déséthylatrazine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	133
Figure B.30 17β-estradiol résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	133
Figure B.31 17α-éthynylestradiol résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	134
Figure B.32 Noréthindrone résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	134
Figure B.33 Carbamazépine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	134
Figure B.34 Caféine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.	135
Figure B.35 Sulfaméthoxazole résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	135
Figure B.36 Diclofénac résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L ⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 5) sur la mesure d'un réplica.	135

Liste des abréviations, des sigles et des acronymes

APCI	Atmospheric pressure chemical ionization / Ionisation chimique sous pression atmosphérique
APPI	Atmospheric pressure photoionization / Photoionisation à pression atmosphérique
a.u. (u.a.)	Arbitrary units / Unités arbitraires
ATZ	Atrazine / Atrazine
BOD	Biochemical oxygen demand / Demande biochimique en oxygène
C _{org}	Organic carbon / Carbone organique
CAF	Caffeine / Caféine
CBZ	Carbamazepine / Carbamazépine
CE	Collision energy / Énergie de collision
CEC	Contaminants of emerging concern
CMI	Minimum inhibitory concentration / Concentration minimale inhibitrice
COD	Chemical oxygen demand / Demande chimique en oxygène
dd-H ₂ O	Distilled-deionised water / Eau distillée-déionisée
DCF	Diclofenac / Diclofénac
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane / Dichlorodiphényltrichloroéthane
DEA	Desethylatrazine / Déséthylatrazine
DEHA	Desethylhydroxyatrazine / Déséthylhydroxyatrazine
DIA	Deisopropylatrazine / Déisopropylatrazine
DIHA	Deisopropylhydroxyatrazine / Déisopropylhydroxyatrazine
DL-50	Median lethal dose / Dose médiane létale
DMDCS	Dimethyldichlorosilane / Diméthyldichlorosilane
DNA	Desoxyribonucleic acid / Acide désoxyribonucléique
DOC	Dissolved organic carbon / Carbone organique dissout
E1	Estrone
E2	17 β -Estradiol
E3	Estriol
EDC	Endocrine disrupting compound / Perturbateur endocrinien
EC	Emerging contaminant / Contaminant émergent

EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid / Acide éthylène diamine tétracétique
EE2	17 α -Ethinylestradiol / 17 α -Éthinylestradiol
ÉI	Étalon interne
EPA	United States Environmental Protection Agency / Agence Américaine de la Protection de l'Environnement
ESI	Electrospray ionization / Ionisation par électronébulisateur
EU	European Union / Union Européenne
FDA	United States Food and Drug Administration / Agence Américaine des Drogues et des Aliments
GC	Gas chromatography / Chromatographie en phase gazeuse
HA	Hydroxyatrazine
HDPE	High density polyethylene / Polyéthylène à haute densité
HPLC	High performance liquid chromatography / Chromatographie liquide à haute performance
IR	Infrared / Infrarouge
IS	Internal standard / Étalon interne
ISO	International Organization for Standardization / Organisation internationale de standardisation
k	Pseudo first order disappearance rate constant / Constante de dégradation pseudo ordre un
K_d	Dissociation constant / Constante de dissociation
K_{oc}	Partition coefficient for organic carbon and water / Coefficient de partage carbone organique-eau
K_{ow}	Octanol-water coefficient / Coefficient octanol-eau
λ	Wavelength / Longueur d'onde
LC	Liquid chromatography / Chromatographie liquide
LC-MS	Liquid chromatography-mass spectrometry / Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
LDPE	Low density polyethylene / Polyéthylène à basse densité
LDTD	Laser diode thermal desorption / Désorption thermique induite par diode laser
LOD	Limit of detection / Limite de détection
LOQ	Limit of quantification / Limite de quantification
L_p	Lag phase / Phase de latence

m/z	Mass to charge ratio / Ratio masse sur charge
MeOH	Methanol / Méthanol
MDDEFP	Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs du Québec
MS	Mass spectroscopy / Spectrométrie de masse
MS/MS	Tandem mass spectrometry / Spectrométrie de masse en tandem
MW	Molecular weight / Masse moléculaire
n.a.	Non applicable
n	Replicate number / nombre de répliques
NOEC	No observed effect concentration / Concentration sans effet observable
NOR	Norethindrone / Noréthindrone
OECD (OCDE)	Organisation for Economic Co-operation and Development / Organisation de coopération et de développement économiques
PCP	Personal care product / Produit de soins personnels
PNEC	Predicted no effect concentration / Concentration prédite sans effet
PPCP	Pharmaceutical and personal care product / produit pharmaceutique et de soins personnels
ppm	Parts per million / Partie par million
pK _a	Logarithmic constant of acidity / Constante d'acidité (logarithme)
PST	Primary settling tank / Décanteur primaire
Q	Water discharge / Débit d'eau
R ²	Coefficient of determination / Coefficient de régression linéaire
RR	Response ratio
RSD	Relative standard deviation / Écart-type relatif
S/N	Signal on noise ratio / Ratio signal sur bruit
SD	Standard deviation / Écart-type
SMX	Sulfamethoxazole / Sulfaméthoxazole
SPE	Solid phase extraction / Extraction sur phase solide
SSI	Sonic spray ionization
<i>t</i> _{1/2}	Half-life / Demi-vie
TL	Tube lens
T _n	n th measurement point / n ^{ième} point de mesure
TOC	Total organic carbone / Carbone organique total

TOF	Time of flight mass spectrometer / Spectromètre de masse à temps d'envol
TSS	Total suspended solids / Matières en suspensions totales
VA	Ambered glass / Verre ambré
VAS	Ambered silanized glass / Verre ambré silanisé
USA	United States of America / États-Unis
UV	Ultraviolet
WWTP	Wastewater treatment plant / Usine de traitement d'eaux usées

Remerciements

J'aimerais remercier mes collègues du laboratoire de chimie environnementale pour leur soutien moral tout au long de ces deux ans et des poussières (un peu trop longues les poussières!). Une mention spéciale à Sung pour son aide, autant technique que théorique. Une autre à Paul pour ses commentaires toujours pertinents et sa jovialité. Merci aussi à Professeur Sébastien Sauvé, directeur de l'équipe, pour son appui tout au long de mon passage dans son équipe de recherche.

À mes parents qui ont fait preuve d'une compréhension hors-pair durant toutes ces années universitaires,

À Enrica Wachholz, qui a été aux premières loges pendant mes crises de paniques,

À tous ceux qui ont cru en moi,

J'ai aujourd'hui le sentiment du devoir accompli.

Guillaume

1. Introduction

1.1. Objectif du projet de maîtrise

Depuis une dizaine d'années, de plus en plus de publications font mention de concentrations significatives de contaminants émergents dans les environnements aquatiques (**Annexe B, Tableau B-1** et **Tableau B-7**). Ces concentrations peuvent, dans certains cas, être dangereuses pour l'humain, la faune, la flore et les écosystèmes, à moyen ou à long terme. Cependant, comme la littérature est très diversifiée, pas assez de données ont été rapportées concernant le comportement de ces composés dans les milieux aquatiques une fois qu'ils y sont introduits (**Annexe B, Tableau B-8**).

Il m'a donc été confié d'étudier les phénomènes de dégradation de neuf contaminants émergents (dans les familles des pesticides, des hormones et des produits pharmaceutiques) dans l'eau. Pour ce faire, une technique d'ionisation analytique récente et développée au Québec par *Phytronix Technologies Inc* a été utilisée, la désorption thermique par diode laser avec ionisation chimique sous pression atmosphérique (LDTD-APCI) couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). La méthode analytique utilisée a été développée pour les molécules ciblées par notre groupe de recherche et venait à peine d'être validée à mon arrivée [1].

Plus spécifiquement, la dégradation chimique dans l'eau de surface ainsi que les dégradations chimiques et biologiques dans l'effluent d'un décanteur primaire d'eau usée brute ont été mesurées pour les neuf composés ciblés (atrazine, déséthylatrazine, 17 β -estradiol, 17 α -éthinyloestradiol, noréthindrone, carbamazépine, caféine, sulfaméthoxazole et diclofénac). Un protocole expérimental mis en place pour mesurer individuellement la dégradation chimique et biologique des composés à l'étude en suivant leur concentration dans le temps a permis de calculer les demi-vies et les constantes de vitesse de dégradation quand la dégradation avait lieu, deux paramètres essentiels à la compréhension du phénomène.

1.1.1. Structure du mémoire de maîtrise

Au **Chapitre 1**, un résumé des principales familles de contaminants organiques émergents est présenté, suivi d'une revue des composés choisis pour le projet. L'accent est mis sur le manque de données de dégradation dans les milieux aquatiques. En dernier lieu, un survol de la technique analytique utilisée est présenté.

Le **Chapitre 2** décrit en détails tous les tests et réflexions qui ont menés à l'élaboration du protocole expérimental tel qu'il a été utilisé pour les expériences de cinétique. Il présente, entre autres, les résultats de tests préliminaires reliés à la technique analytique, décrit le processus de sélection des techniques utilisées pour inhiber la flore bactérienne dans les échantillons et reprend les éléments essentiels de la méthode 309 de l'Organisation de Coopération et de Développement Économique (OCDE), méthode standardisée utilisée pour atteindre l'objectif du projet.

Le **Chapitre 3** ainsi que le matériel supplémentaire qui suit (**Appendix A. Supplementary Material**) compose le manuscrit qui a été soumis au périodique *Environmental Chemistry*. C'est dans ce chapitre que sont émises les conclusions par rapport au potentiel de dégradation des composés choisis dans les eaux à l'étude, appuyées par les différents paramètres de cinétique calculés : les demi-vies et les constantes de dégradation.

Le mémoire se termine avec une conclusion **Chapitre 4** qui résume brièvement l'avancée des travaux effectués dans le cadre du projet. L'**Annexe B** compile toutes les données rapportées intéressantes dans le cadre du projet et présente, sous forme de graphiques, toutes les cinétiques mesurées dans le **Chapitre 3**.

1.2. Contaminants émergents dans les systèmes aquatiques

1.2.1. Produits pharmaceutiques

Les composés pharmaceutiques sont des molécules synthétiques biologiquement actives influençant la vie humaine par leurs actions biochimiques. Ils sont généralement classés selon leur fonction thérapeutique. Les hormones, les antibiotiques, les analgésiques, les stimulants, les médicaments en vente libre et ceux nécessitant une prescription (tels les antiépileptiques, les antidiabétiques, les antidépresseurs, les antipsychotiques, etc.) sont tous des exemples de produits pharmaceutiques [2]. Seules les familles des composés à l'étude seront décrites dans ce sous-chapitre. Les hormones et les antibiotiques, qui sont des entités en soit, seront traités séparément aux **sections 1.2.2.** et **1.2.3.** Ils possèdent trop de caractéristiques qui leurs sont respectivement propres pour les inclure dans un tout. Ils ne sont donc pas a priori intégrés dans les discussions sur l'ensemble des composés pharmaceutiques.

Les analgésiques sont des composés aux propriétés antidouleurs et se divisent en trois catégories : les narcotiques, les non-narcotiques et les anti-inflammatoires non-stéroïdiens. Le diclofénac, l'ibuprofène et la naproxen sont des anti-inflammatoires non-stéroïdiens connus et largement consommés [2].

La présence des contaminants émergents dans les systèmes aquatiques est associée aux décharges industrielles et aux eaux usées. Le traitement de celles-ci n'est pas totalement efficace et c'est de cette façon que les contaminants émergents comme les produits pharmaceutiques sont le plus souvent introduits dans l'eau, que ce soit par excrétion après administration ou tout simplement par disposition directe dans les effluents domestiques (estimée à <10% du volume des rejets). Des études effectuées sur plus de 200 composés pharmaceutiques administrés ont démontré que leur excrétion passait majoritairement par l'urine, avec 64% des composés expulsés de cette façon par rapport à 35% par les matières fécales [3]. Les composés pharmaceutiques peuvent être expulsés sous leur forme parente, métabolisée ou conjuguée d'acide glucuronique ou sulfurique. Comme ils finissent par se retrouver dans les eaux de surface, leur présence dans l'eau potable est tout aussi probable. Contrairement aux produits de soins personnels (PcPs) qui ne sont pas utilisés à des fins thérapeutiques, les effets de l'exposition des composés pharmaceutiques aux humains sont bien compris et ont déjà fait l'objet de nombreuses études. Il reste cependant encore beaucoup de chemin à faire pour en connaître autant sur la faune la flore et les écosystèmes, d'autant plus que les métabolites peuvent être aussi bioactifs que leur molécule parente et les formes conjuguées peuvent se déconjuguer une fois introduite dans l'environnement [2]. Leurs effets dans l'environnement seraient cumulatifs et s'attaqueraient aux écosystèmes [3]. Les concentrations en composés pharmaceutiques retrouvées dans les eaux de surface vont généralement du ng L^{-1} au $\mu\text{g L}^{-1}$, posant ainsi potentiellement des risques significatifs pour la faune et la flore aquatique. Par exemple, une étude effectuée sur 139 cours d'eau à travers 30 états des USA a démontré que la caféine était le composé s'y retrouvant le plus fréquemment, l'ayant été dans 71% des cours d'eau avec une concentration médiane de 100 ng L^{-1} [2].

Trois produits pharmaceutiques (excluant les hormones et les antibiotiques) seront à l'étude dans le cadre du projet de maîtrise : l'antiépileptique carbamazépine, le stimulant caféine et l'anti-inflammatoire diclofénac.

1.2.2. Hormones

Produites par les glandes endocrines et pratiquement tous les tissus, les organes et organismes multicellulaires du corps humain, les hormones en sont les messagers chimiques, transportant les signaux d'une cellule à une autre. Certaines sont produites par les hommes dans leurs testicules et d'autres par les femmes dans leurs ovaires. La croissance, le développement, la fonction sexuelle, la reproduction et l'humeur ne sont que quelques éléments qui sont régis par les hormones. Elles se divisent en trois groupes selon leur structure : les hormones stéroïdiennes, peptidiques et amines. Ces dernières proviennent toutes d'organes différents. Comme ce sont celles qui ont été étudiées dans le cadre du projet de maîtrise, seules les hormones stéroïdiennes seront décrites en détails ici. Leur synthèse est assurée par la corticosurrénale, les organes sexuels et le placenta, par modification chimique du cholestérol. Elles se subdivisent en deux sous-catégories : les corticostéroïdes et les hormones sexuelles. Les hormones sexuelles se divisent en trois grandes familles : les androgènes, les estrogènes et les progestagènes. Des hormones à l'étude, l'estradiol et l'éthinylestradiol sont des estrogènes et la noréthindrone est une progestagène. Certaines hormones sont produites naturellement alors que d'autres sont synthétisées. La **Figure 1.1** montre un résumé des différentes classes d'hormones.

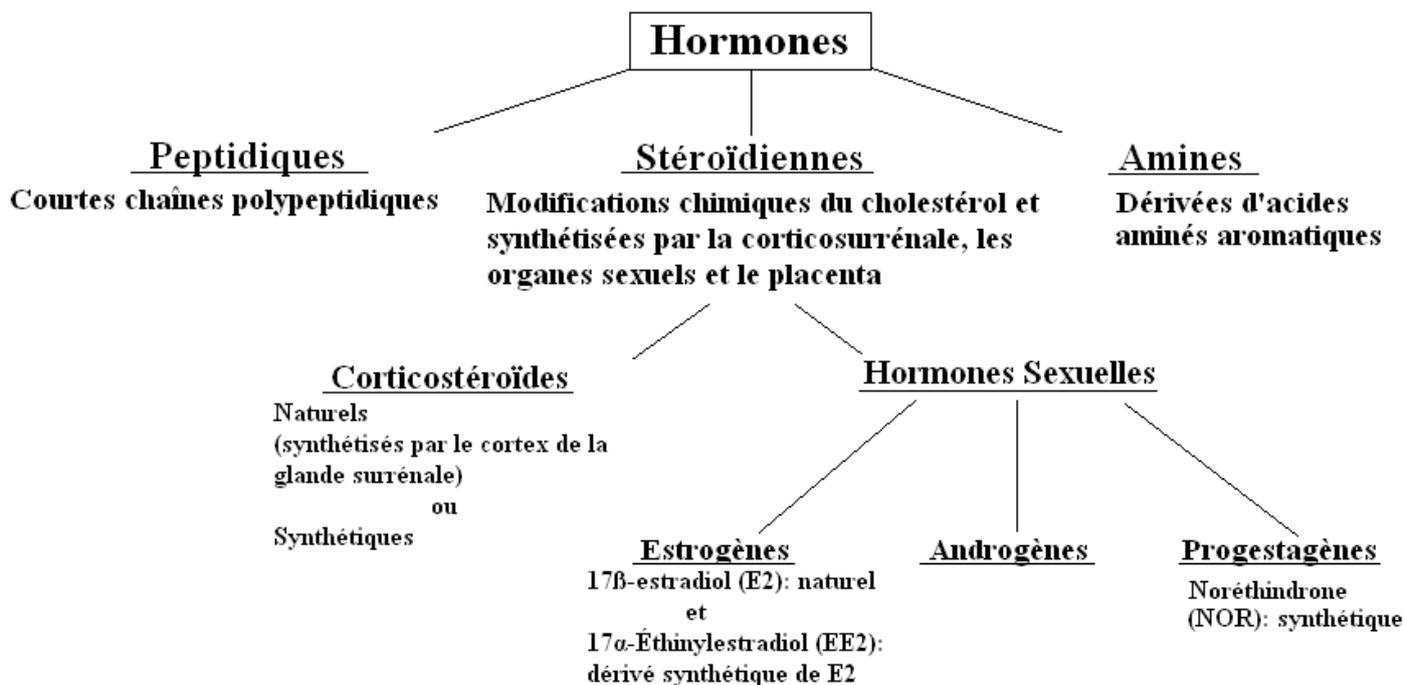


Figure 1.1 Principales catégories d'hormones (selon leur structure), sous-catégories et hormones à l'étude dans le cadre du projet.

Les hormones stéroïdiennes ont toutes une structure commune, tel que démontré ci-dessous.

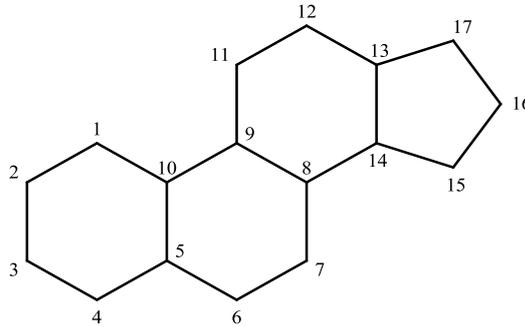


Figure 1.2 Structure commune aux hormones stéroïdiennes estrogènes

Elles sont composées de 17 carbones répartis sur cet arrangement caractéristique de 3 cyclohexanes et un cyclopentane. C'est la présence de groupements fonctionnels ainsi que le degré d'oxydation des cycles qui les différencient.

L'amélioration constante des techniques d'analyse chimique, notamment de par l'amélioration des limites de détection, ont permis à la communauté scientifique de rapporter des concentrations d'hormones dans les systèmes aquatiques dès le début des années 1990. La présence d'hormones dans les eaux de surface et les eaux usées a suffi pour que des études sur les effets potentiels de leur présence dans l'environnement soient menées. Au fil des années, il a été démontré que les estrogènes étaient des perturbateurs endocriniens. Ils s'attaquent au système nerveux, peu importe le rang de l'espèce dans la chaîne trophique, des petites espèces comme les tortues et les poissons à potentiellement, l'homme. Par exemple, une diminution de la taille des gonades ainsi que des anomalies au niveau des ratios mâles : femelles ont été décelés chez des populations de poissons collectées en aval d'une usine d'épuration, conséquence classique d'une exposition prolongée aux composés ostrogéniques [4]. Il ne s'agit qu'un exemple parmi tant d'autres. Les risques liés à leur présence dans l'environnement ne sont pas encore tout à fait compris mais il est clair que l'intérêt qui leur est consacré perdurera, ne serait-ce qu'à cause de l'augmentation de leur utilisation depuis quelques années. En effet, comme elles sont de plus en plus consommées par l'homme dans le cadre de traitements de tout genre, qu'elles sont utilisées en élevage de bétail et qu'elles sont produites naturellement, leur concentration dans l'eau ne fera qu'augmenter.

Les hormones sont majoritairement introduites dans l'environnement par l'humain ou l'animal, qui en secrètent et métabolisent à différents niveaux selon le sexe, l'âge et

l'espèce. Les stations d'épuration peinent à les éliminer complètement. Leurs portions non-métabolisées sont introduites dans les eaux par les effluents. Elles s'accumulent dans les sédiments et sont libérées dans les eaux adjacentes.

Les composés estrogènes, synthétiques comme biogéniques, sont très présents dans l'élevage de bétail. Des études ont même rapportées que l'apport naturel en estrogènes dans l'environnement via les excréments était plus important pour le bétail que les humains, car dans certains pays le bétail est présent en plus grand nombre, sans compter que certains animaux excrètent entre 2 et 10 fois plus d'hormones que les humains. Ce sont des dizaines de tonnes d'estrogènes par année que le bétail excrète aux USA et dans l'EU. Les hormones E1, 17 β -E2, 17 α -E2 and E3 sont les estrogènes naturelles les plus produites et elles peuvent être excrétées via l'urine comme par les matières fécales. Les estrogènes sont présents sous des formes conjuguées dans l'urine alors que c'est sous leur forme libre qu'elles se retrouvent majoritairement dans les matières fécales. Une forte teneur en hormones dans les eaux réceptrices des sites d'élevage est généralement une conséquence directe de ce type d'industrie, notamment parce que les matières fécales animales sont utilisées comme fertilisant en agriculture. Même si les estrogènes possèdent une affinité pour la phase particulaire et donc les sols, ils peuvent quand même se dissiper dans l'eau de ruissellement après une averse pour finalement se retrouver dans les eaux réceptrices [2].

L'humain, quant à lui, en plus de produire naturellement des hormones, consomme des estrogènes naturels et synthétiques administrés comme médicament. Elles sont utilisées comme contraceptifs ou comme traitement à la ménopause et la post-ménopause, dans le traitement du cancer du sein et pour soigner les déséquilibres hormonaux chez la femme. Elles sont aussi utilisées, dans une moins grande mesure, chez l'homme dans le traitement du cancer de la prostate. Cependant, contrairement à l'animal, l'humain excrète la majeure partie des hormones sous leurs formes conjuguées. Ces dernières possèdent un caractère estrogénique moins fort mais n'en demeure pas moins que leur introduction dans l'eau n'est pas à négliger, car elles y sont plus solubles et un humain normal excrète quotidiennement entre 1.0 et 11 μ g d'estrone, de 17 β -estradiol et de 17 α -éthynylestradiol. [2].

1.2.3. Antibiotiques

Un antibiotique, de par sa définition initiale, est une bactérie, ou une toxine produite par une bactérie, qui agit contre une autre. Cependant, dans le cadre de ce travail, c'est plutôt la définition commune qui sera utilisée, soit celle d'un médicament qui combat la bactérie pathogène, médicaments synthétisés normalement issus de dérivés de composés naturels. Un antibiotique peut tout autant affecter un groupe spécifique de bactéries comme il peut en affecter plusieurs. Ceux tuant les bactéries sont appelés bactéricides alors que ceux qui inhibent leur action en empêchant leur croissance sont appelés bactériostatiques [5].

Les antibiotiques de structures et de propriétés chimiques similaires se regroupent par classe. Il en existe plus d'une dizaine. Les familles de composés les plus consommées par l'homme sont dans l'ordre, les β -lactames, les macrolides, les sulfonamides et finalement les fluoroquinolones. Parmi les autres familles se trouve les aminoglycosides, les carbapénèmes, les céphalosporines, les glycopeptides, les polypeptides et les tétracyclines [2].

Non seulement les antibiotiques sont administrés aux humains pour traiter des infections de tout genre mais ils le sont aussi pour le bétail. L'introduction de ces composés dans l'environnement par cette dernière industrie n'est pas à négliger, avec des ventes de plus de 9 millions de kilogrammes d'antibiotiques vétérinaires aux USA seulement au cours de l'année 2001 [2]. Les mentalités tendent à changer, l'Agence Américaine des Drogues et des Aliments (FDA) ayant publié en 2013 un guide destiné aux industries américaines afin d'enrayer l'utilisation d'antibiotiques à des fins non-thérapeutiques sur les fermes [6]. Même si c'est un pas dans la bonne direction pour ce pays, il faut garder en tête qu'il ne s'agit pas d'une législation à proprement dit... Il sera tout de même intéressant de connaître les prochains chiffres à des fins de comparaison.

Chez l'homme, entre 30 et 90% de la molécule parente d'un antibiotique est excrétée selon le composé [2]. Comme c'est le cas pour les pharmas, ils ne sont pas bien éliminés lors du traitement des eaux usées et se retrouvent donc introduits dans les systèmes aquatiques par les effluents des usines. Pour le bétail, les chiffres sont similaires, avec des pourcentages non-métabolisés variant entre 10 et 90% selon le composé, l'espèce et le temps écoulé entre l'administration et l'excrétion [7]. Conséquemment, c'est par ruissellement que les antibiotiques administrés aux animaux

sont introduits dans les cours d'eau, suite à l'épandage du fumier contenant les composés actifs dans les champs. Tout comme les pharmas, les antibiotiques sont retrouvés dans les eaux de surface à des concentrations allant du ng L^{-1} au $\mu\text{g L}^{-1}$ [2].

Même si ces concentrations ont été jugés inoffensives pour l'homme, le manque de données toxicologiques et écotoxicologiques empêche de conclure avec certitude qu'une exposition à long terme dans les compartiments environnementaux ne pose aucun risque pour l'humain. Une fois larguée dans les cours d'eau, les antibiotiques deviennent potentiellement dangereux pour toutes les espèces qui y vivent, de l'algue unicellulaire au poisson, l'algue étant plus sensible. Jusqu'à présent, les chercheurs se sont surtout attardés aux effets sur les communautés microbiennes peuplant les systèmes aquatiques. L'apparition de nombreuses espèces résistantes aux antibiotiques dans des milieux en contenant à des concentrations aussi faibles que le bas ng L^{-1} y a été directement reliée, signe que la présence d'antibiotiques perturbe les écosystèmes [3, 8].

1.2.4. Produits de soins personnels

Les produits de soins personnels (PCPs – *Personal Care Products*) sont des composés qui sont appliqués directement sur le corps humain, pour différentes raisons. Tous les produits servant à l'hygiène corporelle tels les shampoings, les savons et dentifrices figurent parmi les PCPs les plus utilisés. Les fragrances, crèmes solaires, antiseptiques et chasse-moustiques sont fréquents aussi. Comme ils n'ont pas d'effets physiologiques délétères clairement reconnus, ils sont habituellement disponibles en vente libre. Ce sont leurs molécules actives qui sont intéressantes car celles-ci peuvent avoir des conséquences néfastes sur la faune et la flore des compartiments environnementaux qui les accueillent. Contrairement aux hormones stéroïdiennes qui possèdent une structure commune, les milliers de PCPs en vente libre se comportent donc tous différemment, certains se métabolisant rapidement sur le consommateur ou dans l'environnement, d'autres étant stables à long terme. Certains se métabolisent en composés tout aussi bioactifs que leur précurseur.

Une chose est certaine, comme certains produits sont utilisés quotidiennement par la majorité de la population occidentale, ils sont introduits en grandes quantités dans l'environnement. Leur présence dans l'environnement dépend de leur capacité à se dégrader et à la vitesse à laquelle ils le font. Malheureusement, les composés qui se transforment rapidement sont trop souvent ceux qui sont introduits dans

l'environnement en plus grande quantité. Ils sont introduits substantiellement dans les milieux aquatiques par les effluents d'eaux usées parce que la plupart des traitements conventionnels n'éliminent peu ou pas ce type de composés. Leurs molécules actives sont transportées dans l'eau usée par les matières fécales, la disposition de produits expirés ou tout simplement par la prise de douches et bains. L'autre mode d'introduction de ces composés dans les systèmes aquatiques est par contact direct avec les eaux réceptrices, par exemple lors de décharges de déchets industriels provenant d'usine de production de PCPs ou tout simplement lors de baignade. La persistance de certains de ces composés les amènerait jusque dans l'eau potable. Ce n'est qu'à la fin des années 1990 que la communauté scientifique a commencé à s'intéresser aux conséquences à court et à long terme de ces composés dans les écosystèmes, les techniques analytiques n'étant pas assez sensibles avant cette période. Leurs effets ne sont toujours pas totalement compris, mais des études ont révélé que plusieurs d'entre eux se bioaccumulaient et étaient persistants dans les organismes aquatiques. Des concentrations aussi faibles que de l'ordre du $\mu\text{g kg}^{-1}$ dans les tissus peuvent avoir des effets toxiques et agir comme perturbateurs endocriniens [9]. Des changements de composition et d'organisation au sein des communautés d'espèces aquatiques pourraient aussi survenir suite à une exposition persistante de composé.

1.2.5. Pesticides

Un pesticide est toute substance ou mélange de substances utilisé sur des cultures pour réduire, repousser ou détruire tout organisme qui y est non-désiré, de l'insecte à la souris en passant par la mauvaise herbe et la bactérie. Il peut aussi être utilisé à des fins de régulation (comme c'est le cas pour contrôler les mauvaises herbes qui poussent le long des autoroutes) de défoliation ou de dessiccation. Le pesticide est surtout synthétique mais peut être naturel, comme c'est le cas quand des toxines de bactéries sont utilisées en agriculture. Les premières utilisations de pesticides remontent à l'époque romaine, quand du sel était appliqué sur les cultures pour contrôler les mauvaises herbes. Avec plus de 2 milliards de kilogrammes de pesticides utilisés pour une valeur totale de 32 milliards de dollars en 2001, c'est une industrie qui est potentiellement très dangereuse pour les écosystèmes. Environ 75% de l'utilisation annuelle est destinée à l'agriculture [2].

Les pesticides se divisent en plusieurs classes, selon l'utilisation qui en est faite. Les herbicides, les insecticides, les fongicides et les bactéricides. Les herbicides sont de loin

les plus utilisés, représentant 65% de tous les pesticides utilisés en agriculture aux USA, et ce sont ceux qui seront à l'étude ici. Ils peuvent aussi servir pour détruire une plante allergène, une herbe en bordure de route, une plante sur un vert de golf ou un arbre indésirable en forêt. Certains sont sélectifs et tuent seulement les mauvaises herbes comme d'autres ne le sont pas et tuent toute forme de végétation dans la zone d'application. D'autres sont utilisés à même les sols pour atteindre les racines [2].

Les effets des pesticides sur les systèmes aquatiques sont probablement les plus documentés parmi tous les contaminants émergents à l'étude ici, car la problématique remonte à plus longtemps. Par exemple, entre les années 40 et 60, le DDT était utilisé dans toutes les sphères de la société américaine, pour finalement être banni en 1972. Il existe deux types de pollutions environnementales reliées à l'utilisation de pesticides. Quand la source de pollution est identifiable et spécifique, elle est de source ponctuelle. La source de pollution est généralement petite et très concentrée en produits et peut contaminer un grand espace. Les sources de pollution non-ponctuelles sont plus difficiles à identifier car elles peuvent se trouver loin des sites contaminés. L'atmosphère elle-même est une source non-ponctuelle de pollution car elle peut transporter les pesticides volatils sur de très longues distances, surtout quand ces derniers sont appliqués en grandes quantités comme c'est le cas en agriculture. L'autre source non-ponctuelle majeure est la contamination des cours d'eau par ruissellement, transportant les pesticides appliqués sur les champs des sols aux systèmes aquatiques après une averse. D'ailleurs les sources de pollution non-ponctuelle sont les plus importantes, ces dernières étant constantes et impliquant de beaucoup plus grandes quantités de pesticides à long terme. C'est donc dire que contrairement aux autres contaminants émergents décrits ci-dessus, la présence de pesticides n'est pas une conséquence de l'incapacité du traitement des eaux usées à éliminer correctement le produit [2].

Il n'est pas sans dire qu'une exposition à long terme de ces produits utilisés pour détruire des organismes vivants peut être aussi nocive pour l'humain, la faune et la flore qui est en contact directe et indirecte avec les pesticides. De façon générale, parmi les effets directs ont été observés de la mortalité, des développements de tumeurs, des malformations à la naissance et des changements génétiques chez certains organismes aquatiques. À long terme, des réductions d'espèces ont été observées de même que des diminutions de vitesses de photolyse [2]. Les effets sont moins perceptibles chez l'homme mais les avancées de recherche suggèrent que certains pesticides peuvent agir

comme perturbateurs endocriniens, avec des diminutions de la qualité du sperme et des augmentations de cancers d'organes régulées par les glandes endocrines rapportées [10].

1.2.6. Autres

Évidemment, il existe une panoplie d'autres contaminants émergents présents dans les systèmes aquatiques tels que les plastifiants, les antioxydants, les surfactants et les composés ignifuges [3]. Même s'ils ne sont pas intéressants pour le projet et sont moins connus du grand public, leur présence dans l'environnement aquatique est tout aussi préoccupante.

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

La prochaine section concerne les neuf composés qui ont été choisis dans le cadre du projet de maîtrise. En premier lieu, un survol de leurs caractéristiques sera effectué. Leur structure, leurs origines, leurs modes d'introduction dans les milieux aquatiques, leurs métabolites, leurs effets toxicologiques et leurs impacts écotoxicologiques seront tous brièvement abordés. En deuxième lieu, une petite revue des dégradations rapportées dans les milieux aquatiques sera présentée, accompagnée d'une discussion sur la problématique qui nous a menée à mesurer la dégradation chimique dans l'eau de surface et la dégradation chimique et biologique dans l'effluent d'un décanteur primaire d'eau usée.

1.3.1. Description des composés

1.3.1.a. Atrazine

L'atrazine est un herbicide faisant partie de la famille des triazines, ces composés organiques munis d'un hétéroatome aromatique de 6 atomes dont 3 azotes [2].

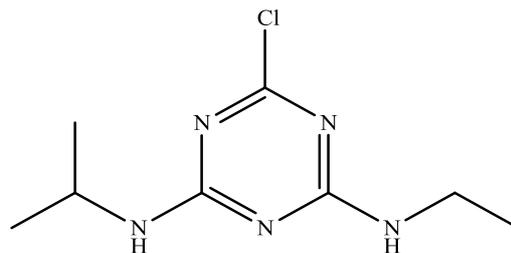


Figure 1.3 Structure de l'atrazine (ATZ)

Il est généralement appliqué dans les champs de maïs et les vergers au printemps sous forme de vaporisateur. En Amérique du Nord, il est surtout utilisé dans le Midwest américain et le sud de l'Ontario. Par exemple, en 1993, entre 32,000 et 34,000 tonnes du produit ont été appliquées dans les champs aux USA seulement! [11] Plusieurs séries d'étude menées dans les années 1990 et 2000 ont mené à des changements dans la réglementation [12]. Malgré tout, un rapport public de l'Agence de Protection Américaine de l'Environnement (EPA) entre 2003 et 2007 révélait que les concentrations d'atrazine et de ses métabolites dans les cours d'eau américains étaient de l'ordre du haut ng L^{-1} , bas $\mu\text{g L}^{-1}$. En janvier 2013, le pesticide était toujours considéré comme l'un des plus utilisés au pays. L'EPA prévoyait d'ailleurs réévaluer le programme national d'atrazine et ainsi adapter la réglementation aux plus récentes conclusions rapportées par la communauté scientifique [13].

Sa faible affinité pour l'eau ($\log K_{ow} = 2.68$ à 25°C) et les petits facteurs de bioconcentrations qui lui sont associés chez nombre d'espèces aquatiques font en sorte qu'il ne se bioamplifie pas dans la chaîne trophique [11]. Il est persistant mais est tout de même sujet à la dégradation biotique et abiotique [14]. Il se déplace jusque dans les cours d'eau par ruissellement et par transport par le vent, comme bon nombre d'autres herbicides.

Comme il est appliqué au printemps, ses concentrations maximales dans l'eau sont épisodiques avec des sommets entre mai et juin. Par exemple, dans l'épilimnion de 18 lacs suisses, la concentration maximale annuelle de 460 ng L^{-1} d'atrazine a été retrouvée en juin près de zones d'utilisation intense du produit alors que l'application de l'herbicide dans les champs avait été effectuée au printemps. L'atrazine a aussi été retrouvé dans l'eau de pluie dans ces régions durant l'été. Tout indique que ce serait la volatilisation du produit ainsi que l'érosion du sol (c'est à dire, le déplacement des particules) qui en seraient les causes [15].

Jusque dans les années 80, peu d'études de dégradation du composé dans des compartiments environnementaux avaient été effectuées. Les scientifiques ne s'en tenaient qu'à des études dans des souches bactériennes pures. Seule sa biodégradation dans les sols avait été étudiée, avec des demi-vies rapportées entre 1.5 et 6 mois selon les systèmes [14].

Selon ses propriétés physico-chimiques, l'atrazine n'est pas susceptible de s'adsorber fortement sur le particulaire dans la colonne d'eau. De plus, le composé devrait être persistant dans une eau faible en microorganismes car sa composante structurale « s-triazine ring » le rend résistant aussi aux attaques microbiennes. En cas de dégradation, les métabolites majeurs connus sont les DEA, HA, DIA, DIHA, DEHA, qui sont tous toxiques mais à des niveaux inférieurs [11]. DEA correspond souvent au métabolite présent en plus grande quantité. C'est d'ailleurs une des molécules d'intérêt dans le cadre de ce projet.

L'impact de la présence de l'atrazine est significatif sur les espèces vivant dans l'eau, les plus petites espèces de la chaîne trophique étant plus sensibles que les grosses. Des concentrations aussi faibles que $1 \mu\text{g L}^{-1}$ ont causé des effets chez le phytoplancton d'eau douce alors qu'à partir de $220 \mu\text{g L}^{-1}$, la moitié de la population de certaines espèces de poissons mourrait. Les concentrations moyennes dans les cours d'eau en zone agricole où l'utilisation de l'atrazine est commune sont rarement au-dessus de $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Cependant, dans les jours qui suivent l'application de l'herbicide sur les cultures, il est commun de mesurer des concentrations supérieures à $20 \mu\text{g L}^{-1}$ dans ce type de cours d'eau car ces derniers servent de drains aux champs et récoltent donc toutes les pertes de produits qui finissent par s'y retrouver par percolation. Les effets sur les espèces vivant dans ces cours d'eau, tout comme la présence de l'atrazine, sont donc épisodiques. Même si de façon générale, la présence de l'herbicide ne pose pas de risques environnementaux importants, il est tout à fait compréhensible de s'intéresser de manière plus approfondie à la présence de ce composé et de ces métabolites dans les écosystèmes, ne serait-ce que pour connaître leur destin lors des périodes de pointe annuelle, car même si elles sont éphémères, elles sont dangereuses [11]. Les concentrations d'atrazine rapportées dans la littérature sont présentées dans les **Annexes (Tableau B-1, Tableau B-4 et Tableau B-7)**.

1.3.1.b. Déséthylatrazine

La déséthylatrazine, tel que mentionné ci-dessus, est le métabolite majeur de l'herbicide atrazine, et c'est pour cette raison qu'il a été choisi dans le cadre de cette étude. Comme il est très similaire à son précurseur, il est juste de croire qu'il se comportera sensiblement de la même façon en termes de toxicité, persistance, etc. Peu d'information est disponible à ce sujet. Il serait toxique mais moins que son précurseur [11]. De plus, le DEA est susceptible d'être encore plus mobile que son précurseur dans

les milieux aqueux car ces K_d et K_{oc} sont d'autant plus faibles que ceux correspondant à l'atrazine cité plus haut, dans les mêmes conditions (0.06 à 1.02 et 12.2 à 44.9) [11].

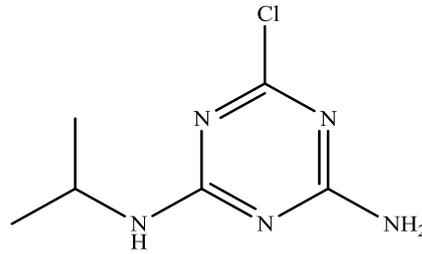


Figure 1.4 Structure de la déséthylatrazine (DEA)

Les concentrations de DEA rapportées dans des milieux aquatiques varient beaucoup, de quelques dizaines de pg L^{-1} à quelques centaines de ng L^{-1} dans l'eau potable comme dans l'eau de surface (**Tableau B-1**, **Tableau B-4** et **Tableau B-7**). Dans quelques cas, les proportions de DEA présentes par rapport à son précurseur sont très surprenantes car elles sont plus élevées, dans l'eau de surface comme dans l'eau potable [16, 17]. Ces résultats suggèrent que la dégradation pourrait avoir lieu dans les sols avant le lessivage du produit jusque dans les cours d'eau [15].

1.3.1.c. 17β -Estradiol

Le 17β -estradiol est une hormone stéroïdienne estrogène retrouvée dans les effluents d'eaux usées à des concentrations de l'ordre du dixième à quelques centaines de ng L^{-1} [1, 18-25] (**Tableau B-2**). Il est responsable du développement des caractéristiques sexuelles secondaires chez la femme, possède des propriétés régulant les processus de reproduction et est produit en grande partie dans les ovaires durant la grossesse, de même que dans le placenta [26]. Elle est introduite dans le réseau d'eaux usées par excrétion, en grande partie par l'urine [27].

Ses concentrations introduites dans les cours d'eau sont souvent supérieures aux doses minimales exhibant des conséquences néfastes sur le système endocrinien des populations aquatiques. Parmi les effets rapportés sur les organismes aquatiques se trouvent la féminisation. Par exemple, une concentration aussi faible que 5 ng L^{-1} en E2 a été directement reliée à la production de protéines spécifiques aux femelles chez le mâle medaka, un poisson japonais. Même si son élimination dans le traitement de l'eau usée est tout de même efficace par rapport à d'autres estrogènes avec des pourcentages d'éliminations rapportés entre 85 et 97% [28], notamment grâce au traitement par boues

activés favorisant la biodégradation du composé, elle n'est pas optimale. La présence de l'enzyme β -glucuronidase issue des bactéries fécales présentes dans l'eau usée permet notamment aux formes conjuguées du composé d'être reconverties en forme libre [29].

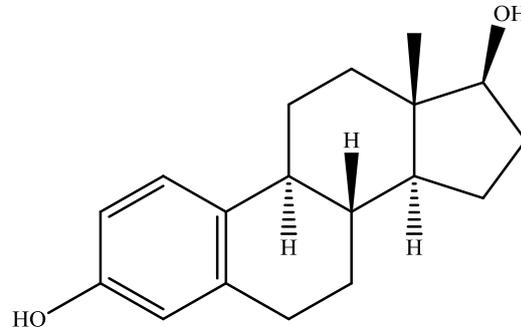


Figure 1.5 Structure du 17 β -estradiol (E2)

1.3.1.d. 17 α -Éthinylestradiol

Le 17 α -éthynylestradiol est un dérivé synthétique du 17 β -estradiol. C'est le premier stéroïde estrogène oralement actif à avoir été synthétisé, sa découverte datant de 1938 [2]. Il est utilisé comme contraceptif oral et est fréquemment prescrit en occident. La puissance pharmacologique de la molécule active fait en sorte que les quantités massiques vendues ne sont pas très élevées en comparaison avec d'autres composés pharmaceutiques. Par exemple, le chiffre ne dépasse pas 50 kg annuellement en Allemagne [30].

Les concentrations rapportées dans les effluents d'eau usées de plusieurs pays occidentaux dont le Canada sont généralement de l'ordre du bas ng L⁻¹, et sont plus petites que E2 [19, 21-23, 25] (**Tableau B-2**). Des valeurs entre 1 et 3 ng L⁻¹ ont été signalées par plusieurs auteurs mais les valeurs canadiennes sont souvent plus élevées [1, 20, 25, 31], indiquant peut être qu'une plus grande quantité de ce contraceptif est utilisée ici ou que les traitements d'eau en place sont moins efficaces (**Tableau B-2**). L'efficacité de l'enlèvement n'est pas tout à fait comprise dans les boues activées, les valeurs rapportées étant très variables pour des systèmes de traitement similaires. L'ambiguïté face à la possibilité de conjugaison réversible des hormones peut expliquer cette contradiction. De par ses propriétés physico-chimiques, dont son affinité pour le particulaire, l'EE2 est susceptible de s'adsorber sur les sédiments aquatiques. Cela ne l'empêche toutefois pas de lixivier éventuellement jusque dans les eaux souterraines pour éventuellement se retrouver dans l'eau potable, comme en témoignent des

concentrations rapportées de l'ordre du haut pg L^{-1} en Allemagne, aux USA et en Chine [32-34] (**Tableau B-7**). Néanmoins, les concentrations moindres par rapport aux autres composés à l'étude ne signifient pas que la présence d'hormones contraceptives dans les cours d'eau n'est pas d'intérêt. Plusieurs études toxicologiques ont rapportée qu'une exposition en EE2 de l'ordre du dixième de ng L^{-1} pouvait induire une féminisation chez certaines espèces de poissons d'eau douce [30].

Tout comme l'E2, l'EE2 serait sujette à la dégradation biologique mais serait beaucoup plus récalcitrant [2].

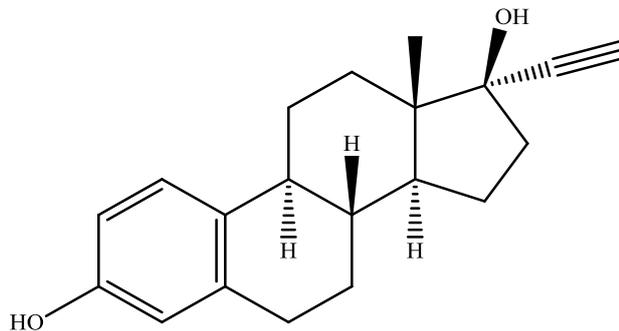


Figure 1.6 Structure de l'éthinylestradiol (EE2)

1.3.1.e. Noréthindrone

La noréthindrone, aussi appelée noréthisterone, est une hormone stéroïdienne progestogène possédant de faibles propriétés ostrogéniques et androgéniques. Elle est synthétique et utilisée comme contraceptif, seule ou en combinaison avec l'éthinylestradiol ou le mestranol [35]. Lorsqu'utilisée en combinaison avec des estrogènes, elle est présente en concentration 5 à 10 fois plus élevée que celles-ci [23]. En 2006, plus de 440 kg de la molécule active ont été prescrits au Royaume-Uni, bon pour le deuxième rang chez les progestogènes. Contrairement aux estrogènes, peu d'études sur la persistance et la présence de ce type de composé dans les eaux usées et les compartiments environnementaux ont été effectués. La molécule serait plus persistante que ces homologues ostrogéniques décrits ci-dessus [36]. De plus, les valeurs rapportées indiquent que la noréthindrone est présente en moins grande quantité dans les systèmes aquatiques (eaux usées, eaux de surface et eaux potable) que les deux autres hormones étudiées, avec des valeurs se situant dans le faible ng L^{-1} , quand le composé est détecté [21-24, 37, 38] (**Tableau B-2** **Tableau B-5** **Tableau B-7**). Néanmoins, la noréthindrone est parfois détecté en plus grande concentration qu'E2 et

EE2 dans les affluents et effluents d'eau usée, tel que rapporté au Canada et en France [1, 39] (**Tableau B-2**).

Sa présence dans l'eau est tout de même préoccupante car c'est aussi un perturbateur endocrinien. Une inhibition de la reproduction de même qu'une masculinisation des femelles a été observée chez des espèces de poissons d'eaux douces à des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g L}^{-1}$ [36], concentrations qui sont cependant rarement retrouvées dans les cours d'eaux. Par contre, des tests ont démontré qu'il pourrait être dangereux de boire de l'eau même légèrement contaminée pour la santé du fœtus d'une femme enceinte. Ces conclusions sont encore à l'état embryonnaire mais les résultats ont suggéré qu'il était déconseillé de boire de l'eau potable contenant 10 ng L^{-1} de NOR (concentration commune dans ce type d'eau) à coup de 2 litres par jour durant toute une grossesse car à la fin de celle-ci, la femme aurait consommée 1.5 % de la dose clinique requise pour causer des effets biologiques (soit l'effet contraceptif dans ce cas-ci) [40].

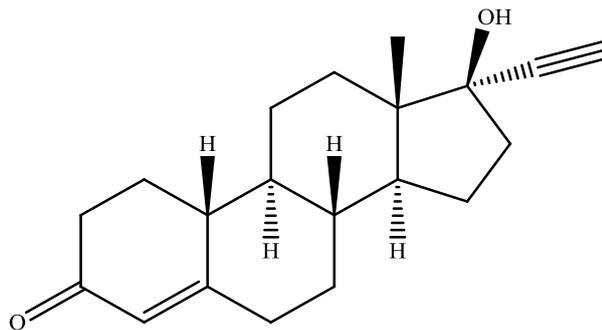


Figure 1.7 Structure de la noréthindrone (NOR)

1.3.1.f. Carbamazépine

La carbamazépine, un antiépileptique, est fréquemment rapportée dans les eaux de surface canadiennes à des concentrations de l'ordre de quelques ng L^{-1} [16, 17, 41] (**Tableau B-6**). Les concentrations rapportées dans les eaux usées sont beaucoup plus élevées, allant parfois jusqu'au bas $\mu\text{g L}^{-1}$ dans les affluents comme dans les effluents [1, 16, 30, 42-44] (**Tableau B-3**). Sa structure est présentée à la **Figure 1.8** ci-dessous. Avec 87 des 1014 tonnes totales de carbamazépine, l'Allemagne figure au premier rang mondial pour la consommation de ce composé pharmaceutique. Converti en dose par capita, il est possible de constater que ce pays consomme énormément de CBZ par rapport à ses voisins de l'Union Européenne (EU), avec une valeur de 1061 mg alors que la valeur pour la France est par exemple, de 678 mg. Le Canada ne donne pas sa

place en ce qui attrait à la CBZ, avec une consommation totale de 28 tonnes et une dose par capita de 903 mg [45].

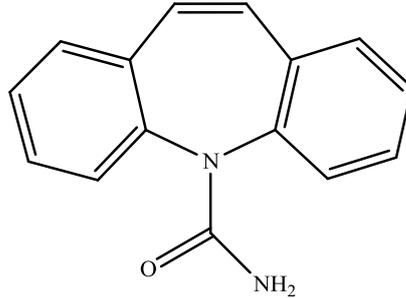


Figure 1.8 Structure de la carbamazépine (CBZ)

Entre 25 et 65 heures après administration et selon la dose, environ 28% de la carbamazépine est excrétée dans les selles sous sa forme initiale. Cette quantité se retrouve donc par la suite dans les eaux usées. Les voies métaboliques ainsi que les métabolites du produit dans le corps humain ont été longuement étudiées mais peu de données sont disponibles pour leur dégradation dans le milieu aquatique [45].

En tenant compte des concentrations de CBZ prédites sans effet (PNEC) mesurées sur une panoplie d'espèces (des algues aux poissons, mesurés par bioessais in vitro) par plusieurs auteurs, les concentrations du composé dans les eaux de surface sont tout de même préoccupantes. En effet, dans certains cas, les PNEC mesurées ($0.42 - 6.359 \mu\text{g L}^{-1}$) [45] sont de l'ordre des concentrations retrouvés dans les cours d'eau (**Tableau B-6**). La compréhension du comportement du CBZ dans le traitement des eaux usées est donc primordiale à l'amélioration des procédés d'élimination du produit.

1.3.1.g. Caféine

La caféine est un composé faisant partie de la famille des méthylxanthines et est présent naturellement dans plus de 60 espèces de plantes. Elle est principalement utilisée pour sa stimulation sur le système nerveux central. La caféine est le composé non-narcotique le plus utilisée au monde et par le fait-même, c'est celui que l'on retrouve le plus fréquemment dans les eaux de surface [2]. Il est très difficile d'estimer la quantité de produit consommée dans le monde tellement il y a de façons d'en consommer. Un café de 250 ml peut contenir entre 56 et 144 mg de caféine selon le type (instantanée, infusé, filtre), une boisson énergisante de 500 ml entre 144 et 174 mg, un thé vert 250 ml 24 mg alors qu'une simple barre de chocolat au lait 6 mg ! La consommation moyenne

quotidienne mondiale de caféine par capita est estimée à 70 mg et varie beaucoup de pays en pays. Aux USA, ce nombre se situe autour de 170 mg alors que chez les grands consommateurs comme les pays scandinaves, ce serait plutôt autour de 400 mg [46].

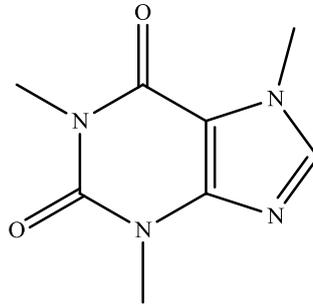


Figure 1.9 Structure de la caféine (CAF)

Dans le corps humain, le composé est entièrement absorbé par le système digestif en moins d'une heure, métabolisé en grande partie dans le foie et est presque entièrement excrété via l'urine en quelques heures, selon l'individu [47]. Le composé est presque entièrement transformé dans le corps humain, avec des valeurs de la molécule inchangée retrouvées entre 1 et 5 % dans les matières fécales [48-50]. La théophylline, la paraxanthine et la théobromine figurent parmi ses métabolites primaires mais ceux-ci sont généralement dégradés à leur tour en acides mono- et di-méthyluriques et en monoéthylxanthines [49, 51].

Malgré sa faible teneur en molécule parente excrétée dans l'urine et ses pourcentages d'élimination élevés dans les eaux usées, la caféine est tellement consommée que ses concentrations retrouvées dans les cours d'eau sont importantes, avec des valeurs oscillant entre le ng L^{-1} et le bas $\mu\text{g L}^{-1}$ rapportées dans des lacs et rivières localisés aux USA, en Allemagne, aux Pays-Bas, en Grèce, au Canada et en Corée [16, 44, 52-54] (**Tableau B-6**). Les concentrations retrouvées dans les effluents d'eaux usées sont de l'ordre du $\mu\text{g L}^{-1}$, pouvant même se rendre jusqu'à quelques centaines de $\mu\text{g L}^{-1}$ [1, 16, 44, 52] (**Tableau B-3**), ce qui pourrait être alarmant. La caféine est le moins toxique des composés à l'étude. Les données écotoxicologiques sur les organismes aquatiques sont cependant peu nombreuses. La littérature semble rapporter que les risques associés à la présence de caféine à des concentrations réelles dans les eaux de surface ne sont pas significatifs. Par exemple, une étude a démontré que les risques cytotoxiques associés à la présence du composé pour les cellules hépatocytes des truites étaient faibles [55]. Une autre a classé le composé comme non-toxique pour les cnidaires, une espèce aquatique regroupant entre autres les méduses [56]. Aucun effet de toxicité chronique

n'a été décelé pour des lentilles, des crustacés et des poissons d'eau douce à des concentrations inférieure au mg L^{-1} , concentrations largement supérieures aux concentrations trouvés dans les systèmes aquatiques.

1.3.1.h. Sulfaméthoxazole

Le sulfaméthoxazole est un antibiotique bactériostatique de la famille des sulfonamides, des composés notamment utilisés dans le traitement contre les infections urinaires. Ils possèdent tous des fonctions dérivées du sulfamide $\text{SO}_2(\text{NH}_2)_2$. Le SMX est réputé efficace contre les bactéries suivantes : *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, ainsi que d'autres organismes anaérobiques. Il est souvent utilisé en combinaison avec la triméthopime. Il est aussi utilisé en médecine vétérinaire, pour soigner le bétail et en aquaculture.

C'est un des sulfonamides synthétiques les plus consommés. Que ce soit chez l'homme ou l'animal, environ 15 à 25 % du composé est excrété sous sa forme initiale après administration. Par le fait même, c'est un des plus détectés dans les excréments d'humains et d'animaux [2]. Sa forte hydrosolubilité [57] et son faible $\log K_{ow}$ [58] font en sorte qu'il migre souvent des excréments d'animaux et des sols par ruissellement jusque dans les cours d'eau [59]. C'est pour cette raison que c'est un des sulfonamides les plus retrouvés dans les eaux souterraines.

Ses concentrations dans les eaux de surfaces, souterraines et en aval d'usines d'épuration d'eaux usées ont été rapportées à des concentrations de l'ordre du ng L^{-1} à quelques dixièmes de $\mu\text{g L}^{-1}$ dans des cours d'eaux européens, canadiens, américains et asiatiques [2, 17, 30, 53, 54, 60-64] (**Tableau B-6**). Les concentrations dans les effluents d'eau usées sont importantes, allant jusqu'au $\mu\text{g L}^{-1}$ [1, 42, 65] (**Tableau B-3**).

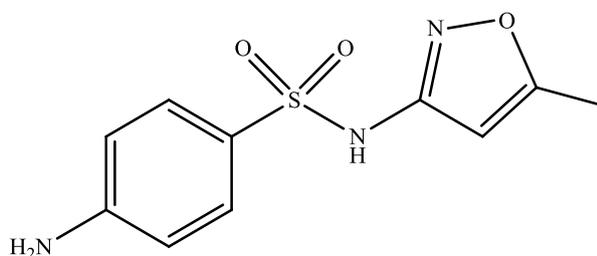


Figure 1.10 Structure du sulfaméthoxazole (SMX)

En 2006, une étude bibliographique a rapportée quelques NOEC chez différents types d'espèces aquatiques. Les sensibilités semblent beaucoup varier en fonction des

espèces, avec des NOEC rapportées de l'ordre du bas $\mu\text{g L}^{-1}$ pour la cyanobactérie *S. leopolensis*, l'algue verte *P. subcapitata* et la puce d'eau *C. dubia*. D'un autre côté, les concentrations réelles en SMX paraissent inoffensives pour l'algue diatomée *C. meneghiniana* et le rotifère *B. calyciflorus* [66].

1.3.1.i. Diclofénac

La situation du diclofénac est un peu unique car c'est un composé qui est très peu consommé au Canada. Sa présence dans les eaux usées et les eaux de surface dans notre partie du globe est donc négligeable. Il a quand même été choisi dans le cadre de la présente étude sous la demande de Veolia France, partenaire et financeur du projet, pour qui les résultats seront utiles.

Le diclofénac est un analgésique non-stéroïdien utilisé pour contrer la douleur et les inflammations. Sa structure est présentée à la **Figure 1.11**. En Europe, c'est un des composés pharmaceutiques actifs les plus présents dans le cycle de l'eau. Des concentrations de l'ordre du ng L^{-1} [30, 44, 61, 64, 67-70] (**Tableau B-6**) ont été rapportées dans des eaux de surface anglaises, suisses, canadiennes, allemandes et brésiliennes. Ailleurs en Europe, des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g L}^{-1}$ ont été rapportées dans les effluents de stations d'épuration d'eaux usées [42, 43, 65] (**Tableau B-3**). Sur près de 1000 tonnes du produit actif vendues chaque année en Europe, plus de 75 tonnes sont vendues en moyenne en Allemagne seulement, ce qui en fait le plus grand consommateur du vieux continent avec une dose annuelle par capita de 915 mg. À titre comparatif, la dose par capita annuelle française est de 271 mg [45]. Il a aussi été rapporté en grandes quantités au Brésil et aux États-Unis. Ses concentrations dans l'eau varient selon les saisons avec des sommets durant la période hivernale dû à une plus grande consommation du produit associée au plus grand nombre de rhumes et gripes [30].

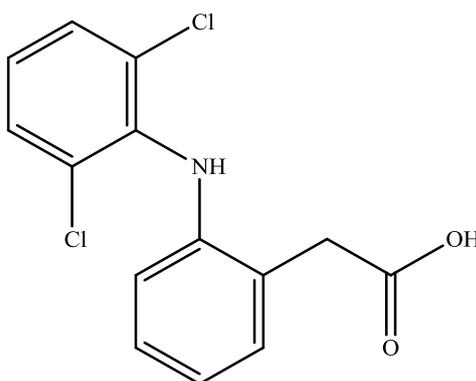


Figure 1.11 Structure du diclofénac (DCF)

Environ 65 % du diclofénac et de ses métabolites sont excrétés quelques heures après l'administration. Dans l'urine, seulement 6% du pourcentage total représente la molécule active sauf que tous les métabolites majeurs sont des dérivés hydroxylés de celle-ci. Sa proportion dans la matière fécale n'est pas totalement comprise. Encore une fois, les données par rapport au comportement de la molécule une fois larguée dans l'eau sont presque inexistantes [45].

Il est connu que le composé n'est pas efficacement éliminé dans les processus de sédimentation du traitement des eaux usées, avec des taux d'élimination variant entre 17 et 69%, la plupart des taux rapportés se rapprochant plutôt de la plus petite valeur. Il devient donc intéressant de savoir quelle serait son potentiel de biodégradation dans ce type d'eau. Pour ce qui est des autres traitements rapportés, la filtration membranaire semble être une bonne alternative pour réduire les doses du produit dans l'eau usée alors que l'efficacité de l'ozonation a été prouvée dans le traitement de l'eau potable [30].

En général, le DCF n'est pas efficacement éliminé dans les traitements d'eaux usées, avec des pourcentages d'élimination situés entre 20 et 80%, la plupart des valeurs se trouvant dans l'intervalle 20-40%. Elles sont néanmoins plus élevées qu'un composé comme le CBZ et cela peut être attribué à leur capacité à s'adsorber sur la phase particulaire. Avec un $\log K_{ow}$ de 4.51 et un K_d de 16 L kg⁻¹, le DCF est plus susceptible de s'adsorber sur les particules et une plus grande partie de ce dernier sera donc éliminé par décantation. Les taux d'élimination rapportés ne sont cependant pas très élevés car il n'est pas facilement biodégradable et c'est à partir de 500 L kg⁻¹ que l'adsorption sur le particulaire est efficace. Il a été rapporté que sa capacité de biodégradation pourrait être fortement dépendante des conditions oxiques/anoxiques du milieu [45].

À titre comparatif, l'étude ayant été faite sur la CBZ [45] a été menée aussi sur le DCF. Les concentrations prévues sans effet mesurées pour le DCF étaient beaucoup plus élevées, suggérant que le composé est moins toxique que le CBZ avec des valeurs de PNEC entre 116 et 139 $\mu\text{g L}^{-1}$. Ces concentrations étant beaucoup plus élevées que celles retrouvées dans les cours d'eau, il serait logique de croire que la présence du composé n'est pas écotoxicologiquement préoccupante. Malgré tout, certaines études ont démontré que les concentrations réelles en DCF étaient dangereuses pour la faune et la flore d'un écosystème. La baisse de la population de vautours au Pakistan, qui a été directement reliée à la présence du DCF, en est un bon exemple [71].

1.3.2. Le peu de données de dégradation en milieux aquatiques : la problématique

1.3.2.a. Atrazine et Déséthylatrazine

Contrairement à dans les milieux aquatiques, la dégradation de l'atrazine est bien documentée dans les sols [72-76], ce qui est tout à fait logique car c'est en agriculture qu'il est majoritairement utilisé. Peu importe l'environnement, l'atrazine serait peu sujet à la biodégradation car seuls ses groupements éthyle et isopropyle peuvent être consommés par les micro-organismes. Son noyau s-triazine n'offre pas d'électrons pour la biodégradation aérobie et c'est donc seulement par déalkylation qu'il peut répondre aux besoins énergétiques des bactéries [77].

Dans les milieux aquatiques, la dégradation rapportée est très diversifiée (**Tableau B-8**). La dégradation abiotique ne semble pas être très importante non plus, même si le premier énoncé ci-dessus suggère qu'elle est plus importante que la biotique [11]. Les demi-vies rapportées pour la photolyse d'ATZ dans l'eau sont de plusieurs mois, voir même d'années [78]. Elles peuvent cependant diminuer substantiellement en présence de photo-sensibilisateurs dans l'eau [79]. Aucune valeur comparable à l'effluent primaire d'eau usée n'a été trouvée pour l'hydrolyse et l'oxydation du composé. Des demi-vies d'hydrolyse nulle à pH 7, de 1000 jours à pH 5 et de 6600 jours à pH 9 dans une eau stérile tamponnée nous poussent à croire que la dégradation abiotique (excluant la photolyse) sera quasi-inexistante dans l'eau de surface testée [79]. On pourrait aussi extrapoler cette hypothèse à l'effluent primaire d'eau usée mais il faut faire attention car il a été suggéré que la présence d'acides humiques (qui sont justement présents en grandes quantités dans l'effluent) catalyserait l'hydrolyse de l'atrazine [11].

Ces premières constatations nous poussent à croire que même dans un milieu aussi dense en bactérie que l'effluent du décanteur primaire d'eau usée, le composé sera récalcitrant à moyen-long terme sans apport de lumière. La demi-vie rapportée de 608 jours dans l'eau d'une mare en anaérobiose [79] soutient cette idée. Le peu de valeurs disponibles dans les milieux aquatiques et la diversité de ceux-ci nous empêchent cependant de confirmer quoi que ce soit sans effectuer de tests expérimentaux dans les matrices à l'étude. Par exemple, dans une eau estuarienne, la demi-vie de dégradation (biotique et abiotique) a été mesurée à entre 3 et 12 jours alors que tout l'atrazine avait disparu dans une eau en aérobie en aval d'une sucrerie après 6 semaines (biotique) [79], suggérant que les concentrations en sels et en sucres influencent beaucoup le phénomène.

Non seulement ces valeurs sont contradictoires par rapport à ce qui a été dit précédemment, mais en plus, elles ne permettent pas de prédire efficacement la dégradation dans les milieux à l'étude. Seule une mesure expérimentale nous permettra de déterminer si la flore bactérienne de l'effluent sera suffisante pour induire une dégradation microbienne à l'atrazine.

Aucune étude ne semble s'être attardée au phénomène pour le DEA, un des métabolites majeurs de l'ATZ. Les tests permettront d'offrir des données pour ce composé. Toutes les valeurs pertinentes de dégradation en milieu aquatique sont présentées au **Tableau B-8**.

1.3.2.b. 17 β -Estradiol, 17 α -Éthinylestradiol et Noréthindrone

La photolyse n'était pas à l'étude dans le cadre du projet de maîtrise parce que c'est le phénomène de dégradation le plus étudié pour les neuf contaminants émergents et parce que son évaluation dans un décanteur qui ne reçoit pas d'apport de lumière était inutile. Pourtant, en 2003, aucune étude de dégradation photolytique n'avait été effectuée sur NOR dans des systèmes environnementaux ou dans des conditions intéressantes pour le projet, ce qui donne une bonne idée des avancées des travaux qui avaient été faits jusque là [80]. Jusqu'à présent, très peu d'études de biodégradation de la noréthindrone ont été effectuées dans des compartiments environnementaux. La littérature est cependant beaucoup plus développée pour les deux autres hormones à l'étude, E2 et EE2 (**Tableau B-8**). Des études de biodégradation effectuées dans les boues des compartiments d'usines de traitement d'eaux usées en Chine ont démontré

qu'en général, les progestogènes se biodégradent plus rapidement que les estrogènes [23]. Le test n'a pas été effectué sur NOR mais cette conclusion suggère tout de même que sa biodégradation pourrait être plus rapide que celle de E2 et EE2 dans l'effluent du décanteur primaire. Un test de stabilité que l'on peut interpréter comme un test de biodégradation a été effectué sur NOR sur une période d'une semaine dans l'effluent final (donc beaucoup plus propre que l'effluent primaire) d'une usine de traitement d'eaux usées se déversant dans la Seine, en France. Les résultats ont démontré que le composé était stable après une semaine [39].

L'absence de dégradation abiotique (excluant la photolyse) rapportée dans des eaux de rivières industrielles, urbaines et rurales [26, 81, 82] pour E2 et EE2 nous pousse à croire que la dégradation chimique sera nulle dans les milieux à l'étude. Les données de biodégradation suggèrent que l'EE2 est plus stable que l'E2 mais les deux estrogènes se biodégradent quand la flore bactérienne est suffisante, avec des valeurs allant de quelques heures dans un bioréacteur à quelques jours dans des eaux de surface (**Tableau B-8**). Aucune valeur comparable à l'effluent du décanteur primaire n'a été trouvée.

1.3.2.c. Carbamazépine

Les quatre processus les plus souvent utilisés pour réduire la concentration en micropolluants organiques dans l'eau usée sont la biodégradation sur boues activées, la photolyse, la sorption sur boue et l'«air stripping». Ce dernier processus n'est cependant pas efficace pour éliminer CBZ des eaux usées car sa constante de Henry [83] n'est pas assez élevée pour permettre sa volatilisation. La photodégradation est utilisée dans des bassins ouverts et peut être efficace dans les régions où il y a beaucoup d'ensoleillement. De plus, même si la photolyse semble être le seul phénomène de dégradation qui contribue à la disparition du composé en milieu aquatique [84, 85], ce ne serait pas idéal dans l'effluent de décanteur qui n'est pas assez translucide pour permettre une bonne pénétration des rayons dans l'eau car sa photolyse est lente (**Tableau B-8**).

La compilation de données a permis de constater qu'au mieux, la carbamazépine est éliminée à 53% dans le traitement de l'eau usée. La plupart des traitements l'éliminent à moins de 10%, comme c'est le cas par décantation [30]. Ces faibles valeurs peuvent être expliquées par les propriétés physico-chimiques de CBZ et sa faible capacité à se

biodégrader. Son K_d , coefficient de distribution entre l'eau et les solides n'est que de 1.2 L/kg alors que le seuil reconnu pour une sorption significative est autour de 500. Par le fait-même, il se déplace dans les sols par ruissellement et c'est une des raisons pourquoi il a été détecté dans beaucoup d'eaux souterraines [45]. Aucun test de dégradation n'a cependant été effectué dans l'effluent du décanteur primaire. Si CBZ se dégradait dans ce dernier ? La littérature suggère cependant le contraire, le composé ne s'étant pas dégradé significativement après une série de traitements se basant sur la dégradation microbienne dans des usines de traitement d'eaux usées australiennes [86]. La carbamazépine est reconnue comme étant un composé récalcitrant dans les milieux aquatiques. Des demi-vies d'hydrolyse et de biodégradation nulles ou extrêmement lentes ont été rapportées [87, 88]. Il est donc très plausible que la carbamazépine soit récalcitrante dans l'effluent du décanteur primaire d'eau usée.

1.3.2.d. Caféine

Le composé est reconnu comme étant persistant à la dégradation microbienne dans les cours d'eau [52, 89]. Heureusement, son élimination efficace dans les usines d'épuration par traitement par boues activées ramène ces concentrations à des valeurs de l'ordre du ng L^{-1} dans les cours d'eau [90]. Cela prouve que le composé est tout de même sujet à la biodégradation quand les conditions optimales sont réunies, comme le démontre le pourcentage d'élimination moyen de 99.6 ± 0.2 du composé dans 16 usines de traitements situées dans le Canton de Zurich, en Suisse [52] qui traite le composé en le biodégradant. La photolyse de la caféine dans les eaux de surface est rapide, avec des demi-vies de quelques jours [52, 87]. Cependant, comme l'hydrolyse ne semble pas contribuer à la disparition de la caféine dans les milieux aquatiques [52, 87], on se s'attend pas à ce que le composé se dégrade chimiquement (excluant la photolyse) dans les eaux de surface testées. Pour ce qui est de l'effluent du décanteur primaire, la dégradation microbienne devrait avoir lieu. Toutes les données de dégradation dans les milieux aquatiques sont présentées au **Tableau B-8**.

1.3.2.e. Sulfaméthoxazole

Comme la caféine, il est considéré comme persistant dans les cours d'eau mais lorsque la biomasse est suffisante, il est sujet à la biodégradation. Ce ne serait toutefois pas le cas dans les eaux douces mais plutôt dans les eaux usées, qui possèdent des densités bactériennes suffisantes (**Tableau B-8**). Le composé est aussi sujet à la photolyse, avec

des demi-vies rapportées allant de 2.4 jours pour une eau à pH 5.5 recevant de la lumière naturelle à 50 °N de latitude [91] à 48.9 jours pour une eau d'étang [92]. Puisque SMX ne semble pas être apte à subir d'hydrolyse dans les milieux aquatiques naturels [52, 87], on ne s'attend à ce qu'il reste stable durant toute la durée des expériences de dégradation chimique dans les eaux de surface. Pour ce qui est de l'effluent du décanteur primaire d'eau usée, la flore bactérienne devrait être suffisante pour consommer le produit. Il ne serait cependant pas surprenant que la dégradation biologique soit très lente parce que les valeurs trouvées dans la littérature les plus pertinentes pour notre système stipulent que SMX s'est dégradé de 20 % en 10 jours dans une eau usée brute et qu'il ne s'est pas dégradé dans l'effluent final [90].

1.3.2.f. Diclofénac

La photolyse du diclofénac est parmi les plus rapides parmi tous les composés à l'étude, avec entre autres, une demi-vie rapportée de cinq jours dans une eau à pH 5.5 recevant de la lumière naturelle à 50 °N de latitude [91] et une disparition de 90% en une heure dans l'eau de surface d'un lac. On ne peut pas en dire autant des autres processus de dégradation chimique et de la dégradation microbienne, avec aucune disparition mesurée après 28 jours dans des boues activées [45]. Il serait peu biodégradable mais sa capacité à biodégrader serait fortement dépendante des conditions oxiques/anoxiques du milieu [45]. Le traitement par boues activées se base sur la biodégradation pour éliminer un composé et son compartiment est extrêmement dense en bactéries. Aucune disparition n'a été mesurée dans l'eau de surface d'un lac incubé à la noirceur (hydrolyse et biodégradation) [45]. Peu de données comparables à nos milieux ont été trouvées dans la littérature mais tout indique que la dégradation chimique sera nulle dans l'eau de surface testée et que la dégradation biologique le sera tout autant dans l'effluent du décanteur primaire d'eau usée.

1.4. Types d'eau sélectionnés dans le cadre du projet de maîtrise

L'eau de surface a été choisie pour palier un manque de données de dégradation rapportées pour les composés à l'étude, tel qu'expliqué à la section **1.3.2.** . Il s'agissait ici de fournir des données de dégradation pour un milieu aquatique réel, soit une eau de surface n'ayant pas subi de perturbation ou de stress environnemental, contrairement à la tendance dans la littérature qui semblait ne s'attarder qu'à ce type de milieu (**Tableau B-8**). L'eau de surface provient d'une rivière en zone urbaine.

Le projet de maîtrise s'insérait dans un plus imposant projet en collaboration avec la *Chaire ModelEAU de l'Université Laval* et la compagnie *Véolia France*. Ce projet avait comme objectif de modéliser un décanteur primaire d'eau usée plus performant dans le contexte actuel où de plus en plus de contaminants émergents sont introduits dans les cours d'eau suite à une mauvaise élimination dans les stations d'épuration d'eaux usées; d'où la nécessité de mesurer la dégradation dans ce type d'eau. Les paramètres de cinétiques calculés et les conclusions tirées des résultats dans l'effluent du décanteur primaire d'eau usée ont donc permis de faire progresser le projet.

En tout, quatre expériences de cinétique ont été effectuées, chacune possédant des caractéristiques et un type d'eau. Désignées par les codes #I, #II, #III et #IV, où #I et II impliquent l'eau de surface issue d'une rivière urbaine filtrée 0,45 µm et où #III et IV impliquent l'effluent du décanteur primaire d'eau usée brute. Elles sont présentées en détail dans le manuscrit (**Chapitre 3, Table III-2**). Les caractéristiques des eaux utilisées sont aussi décrites dans le même chapitre (**Table III-3**).

1.5. Techniques utilisées pour quantifier les contaminants émergents dans l'eau

1.5.1. Chromatographie liquide couplée au spectromètre de masse

Cette technique a pris d'assaut les laboratoires de chimie environnementale et a littéralement permis de révolutionner le monde de l'analyse de contaminants émergents. Combinée à l'extraction sur phase solide (SPE) permettant de nettoyer la matrice et/ou préconcentrer l'analyte, la technique a notamment permis la quantification de composés pharmaceutiques, d'hormones et de PCPs à leurs concentrations réelles dans l'eau (soit de l'ordre du ng L⁻¹), chose qui n'était pas faisable auparavant sans dérivation. De plus, comme dans la plupart des cas, ces types de contaminants émergents ne sont pas ou peu volatils, il n'était pas possible de les quantifier par chromatographie gazeuse (GC) [93].

Quatre sources d'ionisation sont communément utilisées à l'interface LC-MS. Il s'agit de l'ESI, l'APCI, l'APPI et la SSI, ces deux dernières ayant été instaurées récemment. Les types de spectromètres de masse les plus utilisés sont le spectromètre à temps d'envol (TOF), le trappe ionique (MSⁿ) et le triple-quadripôle (MS/MS) [93]. Le couplage LC-MS/MS est très intéressant à cause de son principe de fragmentation multiple, ce qui permet de passer outre au problème de basse résolution associé à la

présence d'un seul quadripôle (LC-MS). En fragmentant un ion parent sélectionné par le premier quadripôle mais associé à deux composés, les ions fragments issus de deux composés distincts sont formés, contournant ainsi le problème de co-élution et les possibilités de faux positifs. Le désavantage de cette technique est que sans spectre de référence, il est très difficile d'identifier un composé inconnu à partir de son spectre de masse. C'est plutôt une technique utile quand une base de données est à portée de main dans le cas de l'analyse d'un composé inconnu ou quand le composé à quantifier est connu et que la méthode analytique est disponible. C'est à ce moment que le TOF devient utile, car ce dernier est un appareil à haute résolution et permet d'utiliser la masse exacte du composé, d'où l'augmentation exponentielle du nombre de publications impliquant la quantification de contaminants émergents dans l'environnement au début des années 90 [94].

1.5.2. Technique et méthode analytique utilisée dans le cadre du projet de maîtrise

La technique utilisée dans le cadre du présent projet est la désorption thermique à diode laser (LDTD) avec ionisation chimique à pression ambiante (APCI) couplée à un spectromètre de masse à triple quadripôle (MS/MS), plus communément appelée LDTD-APCI-MS/MS. C'est une technique très récente qui a été développée ici-même, au Québec. Elle sera introduite dans la prochaine section.

La technique LDTD-APCI-MS/MS a été choisie pour une raison principale : sa rapidité d'analyse. La réalisation des expériences de cinétiques avec toutes les matrices, les conditions et les composés testés dans le temps nécessitait beaucoup d'analyses. Comme les cinétiques de dégradation sont des phénomènes exponentiels et que l'hypothèse avait été émise que la complétion de ceux-ci serait relativement rapide (quelques heures à quelques jours), il avait été prévu dans le protocole d'effectuer plusieurs quantifications dans les 48 premières heures suivant l'ajout des composés dans les matrices à l'étude. Compte tenu du fait qu'aucune technique de conservation efficace des échantillons à analyser n'avait été démontrée, il a été jugé plus approprié d'analyser les échantillons sur le champ, en minimisant le plus possible le temps entre la prise de l'aliquote et la quantification de celui-ci. La technique analytique choisie devait avoir un débit d'analyse très important pour éviter qu'une série d'analyse d'aliquotes d'un point de la cinétique n'empiète sur la prochaine. Il aurait été très difficile de réaliser cela avec la LC-MS/MS, celle-ci analysant un échantillon en une quinzaine de

minutes comparativement au LDTD-MS/MS qui peut le faire en une dizaine de secondes.

1.6. Introduction à la technique LDTD-APCI-MS/MS

Tel que mentionné à la **section 1.5.1.**, l'amélioration des techniques analytiques au cours des dernières décennies a permis d'atteindre de nouveaux niveaux de sensibilité en ce qui attrait à l'analyse de contaminants émergents dans les matrices complexes. Malgré ces progrès, un paramètre impliqué dans l'analyse n'avait toujours pas été optimisé : le temps d'analyse. Dans le secteur de la recherche et du développement, c'est un problème qui est facile à contourner car les il y a toujours possibilité de s'occuper autrement, d'en profiter pour progresser ou de travailler sur autre chose pendant qu'une série d'analyse est en cours. Par contre, dans les secteurs de production où seul le nombre d'analyses est primordial car elles sont synonymes de profits, il peut être désavantageux d'utiliser des techniques comme la LC-MS ou la GC-MS pour lesquelles les temps d'analyses sont longs. Pour remédier à la situation et offrir une autre option plus rapide et tout aussi efficace, la LDTD a été développée. La productivité n'aura jamais été aussi optimale.

La technique de désorption thermique par diode laser a été développée en 2006 par la compagnie québécoise *Phytronix Technologies Inc.* En plus d'être 10 à 100 fois plus rapide que son équivalent en LC-MS/MS, c'est une technologie plus verte car elle n'implique pas l'utilisation de grandes quantités de solvants comme c'est le cas avec la LC. Jouant le rôle de source d'ionisation et couplée à un spectromètre de masse, la technique est idéale pour l'analyse de contaminants émergents dans plusieurs domaines de la chimie analytique, que ce soit pour le dépistage de drogues dans l'urine ou le sang en toxicologie, la quantification de pesticides dans l'eau ou les sols en environnement ou l'analyse de pharmas dans le miel en nutrition. D'ailleurs, depuis son introduction sur le marché, en plus de la méthode utilisée dans le cadre de ce projet [1], de plus en plus de papiers impliquant le technique ont été publiés : sulfonamides dans le lait [95], hormones stéroïdiennes dans les eaux usées [96], perturbateurs endocriniens dans les sols, sédiments et boues [97] pour en nommer quelques-uns. L'utilisation de la technique dépasse même les frontières du Québec [98].

1.6.1. Principes de fonctionnement du LDTD

L'échantillonneur, la source de désorption thermique par diode laser et la source d'ionisation APCI constituent les trois grandes composantes du LDTD. Elles sont décrites en détail dans les paragraphes suivant.

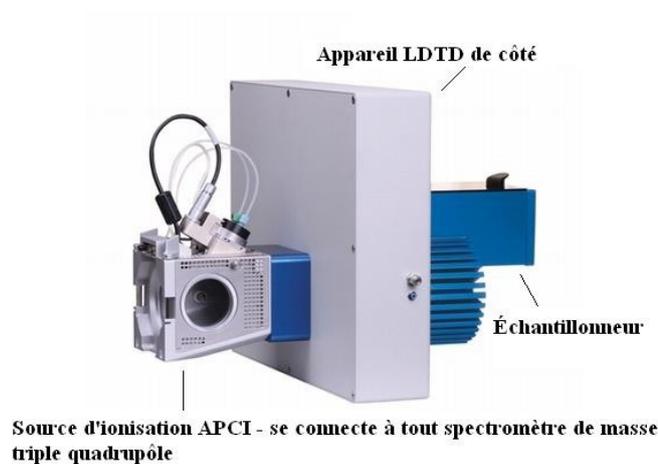


Figure 1.12 Appareil LDTD-APCI utilisé dans le cadre du projet de maîtrise

1.6.1.a. Préparation de l'échantillon et échantillonneur

Sans nécessairement être une obligation, il est suggéré de passer l'échantillon à analyser par une technique d'extraction pour le purifier. Par exemple, l'extraction sur phase solide (SPE) est commune pour ce qui est de l'analyse de contaminants émergents dans les matrices complexes. Un ajustement de l'échantillon comme une dilution dans un solvant organique peut aussi être nécessaire pour optimiser l'ionisation des analytes. Une fois l'échantillon prêt, une aliquote de ce dernier est déposée dans un des 96 puits en acier d'une plaque analytique rectangulaire en polypropylène. Les plaques sont toutes numérotées à l'aide d'un système de code-bar qui doit être rentré dans la séquence à analyser par ordinateur pour que l'appareil puisse les reconnaître. Les puits sont eux-aussi identifiés. Le volume de déposition d'aliquote se trouve généralement entre 2 et 5 μl mais les puits acceptent jusqu'à 10 μl et généralement un minimum de 3 puits par échantillon sont utilisés pour minimiser l'erreur analytique. Une fois la plaque préparée, elle est placée quelques minutes au four à 35 °C pour permettre au contenu des puits de sécher, c.-à-d. à la matrice de solvant de s'évaporer, formant ainsi une mince couche de nano cristaux d'analytes à l'intérieur des cavités au fond des puits. Une fois séchée, la plaque est insérée dans l'échantillonneur et la séquence d'analyse est démarrée. Un

exemple de plaques LDTD insérées dans l'échantillonneur est présenté à la figure ci-dessous.



Figure 1.13 Insertion de plaques LDTD dans l'échantillonneur. Ce dernier peut contenir jusqu'à 10 plaques, pour un total possible de 960 analyses par séquence analytique

Une fois la séquence d'analyse mise en route, la plaque se déplace à l'intérieur de l'appareil selon les axes X-Y grâce à de l'air injecté par une bonbonne qui y est reliée de l'extérieur. La plaque vient se placer de façon à ce que l'arrière du premier puits inscrit dans la séquence analytique (par ordinateur) soit vis-à-vis le faisceau laser incident. Un tube de transfert servant à minimiser les pertes d'analytes durant leur transport jusqu'à la source d'ionisation vient ensuite se placer dans la cavité du puits, tel que le montre la figure ci-dessous.

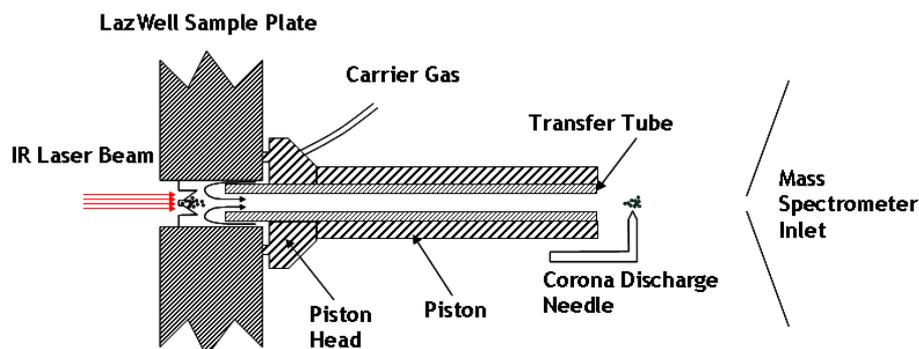


Figure 1.14 Schéma de la source LDTD-APCI en section transversale.

1.6.1.b. Désorption thermique par diode laser infrarouge

Une irradiation par diode laser frappe ensuite l'arrière du puits en acier inoxydable pendant une courte période de temps (typiquement 4 à 6 secondes). S'ensuit une transmission de l'énergie thermique aux analytes préalablement séchés à l'intérieur du puits qui, sous l'action de la chaleur, désorbent à une température en deçà de leur point de fusion. Cette action est entre autres favorisée par la forme concave des puits qui a

permis préalablement aux analytes de sécher concentriquement au centre de la cavité. À noter que plusieurs paramètres du laser sont à optimiser pour maximiser la désorption du produit et seront décrits plus en détails à la **section 1.6.2**.

Les molécules fraîchement désorbées se retrouvent donc sous forme neutre et gazeuse et sont emportées par un gaz vecteur (air) à 3 L min^{-1} . L'énergie interne des molécules est dissipée par collisions élastiques avec les molécules du gaz durant leur transport dans le tube de transfert, ce qui diminue les possibilités de fragmentation thermique.

1.6.1.c. Ionisation chimique à pression atmosphérique

Les molécules d'analytes neutres arrivent alors dans la source d'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI), petite chambre constituée d'une aiguille corona et d'une contre-électrode. Le principe de l'APCI est d'ioniser un analyte pour pouvoir permettre son analyse selon son rapport masse sur charge dans le spectromètre de masse, et son principe repose sur un transfert de charge d'une molécule réactive à une molécule d'intérêt. En LDTD-APCI, le principe est cependant différent des APCI conventionnels qui sont normalement couplés avec la chromatographie liquide (LC-APCI). Contrairement à celle-ci, en LDTD-APCI l'ionisation par transfert de protons ne se fait pas des molécules de solvant ionisés à l'analyte mais plutôt par transfert de protons directement des ions H_3O^+ et $(\text{H}_2\text{O})\text{H}_3\text{O}^+$ vers l'analyte. En effet, comme dans toute source APCI conventionnelle, une différence de potentiel de quelques kV (positif ou négatif selon le type d'ionisation désirée) est appliquée à l'aiguille Corona et sa contre électrode, provoquant un courant de quelques μA . Cette source d'électrons constante peut alors ioniser l'environnement ambiant, ce qu'elle fera en ionisant les molécules de N_2 et d' O_2 présentes dans le gaz vecteur (air). Les ions primaires nouvellement formés N_2^{*+} et O_2^{*+} réagiront ensuite avec les molécules d'eau présentes dans ce même gaz vecteur, formant les espèces H_3O^+ et $(\text{H}_2\text{O})\text{H}_3\text{O}^+$ qui réagiront par transfert de protons directement avec les molécules d'analytes neutres, ionisant celles-ci. La présence d'un taux élevé d'humidité, comme ce peut être le cas quand l'air utilisé n'est pas assez sec ou par journée humide d'été, peut diminuer la sensibilité par formation d'agrégats (clusters) d'eau de type $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ où $n \geq 3$. Par la suite, les molécules sont entraînées dans le spectromètre de masse par un second tube de transfert.

1.6.2. Optimisation des paramètres LDTD

Comme la LDTD est une technique récente, qu'elle n'est pas encore très répandue et que le projet de maîtrise n'impliquait pas le développement de méthode analytique (déjà effectué par un autre étudiant – Michel Boisvert [1]), seulement un bref survol des différents paramètres de l'appareil pouvant être optimisés sera effectué dans les paragraphes suivants.

1.6.2.a. Solvant de reconstitution et volume de déposition

Ces deux paramètres ne font pas partie des paramètres de l'appareil à proprement dit mais plutôt de la préparation de l'échantillon pour l'analyse. Ils sont cependant toujours optimisés dans le cadre du développement d'une méthode LDTD car tel que mentionné plus haut, cette technique implique souvent une extraction de l'échantillon. L'échantillon doit donc être reconstitué pour être déposé uniformément dans le puits. L'acétonitrile, le méthanol, l'eau et l'acétate d'éthyle sont des solvants communément utilisés pour cette étape. Le choix du solvant influencera la façon dont les analytes sécheront dans le puits, ce qui pourrait uniformiser le transfert de chaleur aux analytes lors de l'irradiation laser et optimiser leur désorption.

Les deux paramètres sont optimisés en fonction de la forme du pic MS/MS sortant, de l'intensité de celui-ci et de la variabilité sur le signal. Il faut souvent trouver un compromis entre l'intensité du signal et la variabilité de ceux-ci pour le volume de déposition car plus ce volume est élevé, plus la quantité d'analyte déposée et séchée dans le puits le sera. L'intensité du signal sera élevée mais la variabilité aussi : si l'échantillon contient toujours de la matrice, le nombre d'impuretés augmente. Ce n'est pas idéal car dans certains cas, c'est plutôt une suppression d'ions qui sera observée.

1.6.2.b. Paramètres de la diode laser

La puissance maximale de l'intensité du faisceau incident (sur une échelle de 0 à 100%), la vitesse d'augmentation de la puissance (% seconde⁻¹) et le temps de maintien de la puissance laser par niveau de puissance (seconde) sont les trois paramètres du laser à optimiser lors du développement d'une méthode LDTD. Plus la puissance du laser est élevée, plus la température à laquelle les composés séchés dans la cavité du puits se désorberont sera élevée car le puits transférera plus de chaleur aux analytes. Un impact ponctuel du laser à une puissance trop élevée abîmerait le puits et dégraderait le

composé, ce qui n'est évidemment pas l'effet désiré. La programmation d'un patron laser sur une échelle de temps permet une désorption progressive et optimale. À noter que même si techniquement ce phénomène de désorption sélective s'apparente à une séparation de constituants, les composés devraient désorber en ordre de volatilité décroissante, la LDTD n'est pas utilisée pour séparer les analytes comme c'est le cas en LC ou GC. La technique n'a pas été développée pour cette raison. C'est plutôt la possibilité d'analyser les constituants d'une matrice simultanément qui est exploitée en couplant la LDTD avec un spectromètre de masse en tandem comme le triple-quadripôle, ce qui est possible grâce à la fragmentation multiples des ions. Les paramètres du laser peuvent quand même contribuer indirectement à purifier une matrice complexe car ces dernières comportent généralement beaucoup d'impuretés non-polaires et non-volatiles qui ne désorberont pas avec les analytes.

1.6.2.c. Autres

Parmi les autres paramètres LDTD à optimiser se trouve le débit du gaz vecteur qui influence le temps que passe les analytes dans le chambre d'ionisation et par le fait-même, la résolution des pics (par le ratio signal sur bruit des pics S/N). La durée du scan en secondes (scan time) et la largeur du filtre en chrome en secondes (chrome filter width) sont deux autres paramètres.

1.6.3. Principes du spectromètre de masse triple quadripôle (MS/MS)

Comme la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) par triple quadripôle est une technique répandue et utilisée depuis des décennies en chimie analytique et que le développement de méthode analytique n'est pas l'objectif du projet de maîtrise, seul un bref survol de ses principes sera effectué.

1.6.3.a. Généralités

La spectrométrie de masse est une technique analytique qui sépare les composés en état gazeux selon leur ratio masse sur charge (m/z). De façon générale, elle est utilisée pour identifier les composés selon leur masse, pour déterminer la signature isotopique d'un composé ou pour analyser qualitativement un échantillon complexe.

Le spectromètre triple quadripôle, la technique utilisée ici, se compose de trois quadripôles consécutifs sur lesquels une combinaison de potentiel direct et alternatif (radiofréquence) est appliquée. Le premier et le troisième quadripôle servent de filtres

de masse alors que celui du milieu sert de cellule de collision (pour la fragmentation). En fixant les paramètres, il est possible de travailler sous plusieurs modes. Le mode « *product ion scan* » permet de trouver toutes les fragmentations possibles à partir d'un ion parent ou précurseur en sélectionnant celui-ci par le premier quadripôle, en le fragmentant dans le deuxième et effectuant un balayage complet de la fenêtre m/z dans le troisième. Le mode « *precursor ion scan* » permet de déterminer tous les ions précurseurs dans l'échantillon qui donnent un fragment d'un m/z fixe, en effectuant un balayage complet dans le premier quadripôle, en fragmentant tout dans le deuxième et en sélectionnant un ion spécifique dans le troisième. Le mode « *neutral loss scan* » permet, en balayant simultanément les premiers et troisièmes quadripôles tout en fixant une différence constante de masse correspondant à un groupement fonctionnel neutre, de connaître tous les ions précurseurs dans l'échantillon possédant ce dit groupement fonctionnel. Le dernier mode est le plus sensible et c'est celui qui est impliqué dans la méthode analytique utilisée dans le cadre du projet de maîtrise. Il s'agit du mode « *selected reaction monitoring* », qui permet, quand l'ion précurseur et ses fragments sont connus, de quantifier ce dernier dans une matrice complexe. C'est le mode le plus sensible et le plus robuste car il permet de sélectionner un ion parent dans le premier quadripôle, de le fragmenter dans le deuxième et de choisir un ion fragment spécifique dans le troisième. Les possibilités que deux composantes de l'échantillon aillent le même ion précurseur et se fragmentent de la même façon sont faibles [99].

1.6.4. Description de la méthode analytique utilisée LDTD-APCI-MS/MS

À noter ici que comme la méthode utilisée a été développée pour quantifier les contaminants émergents à l'étude à des concentrations réelles dans l'eau usée et que ce n'était pas le but de la présente étude, des modifications ont eu lieu dans les étapes de préparation de l'échantillon. Puisque pour mesurer les cinétiques de dégradation des composés dans l'eau, les composés ont été ajoutés à des concentrations de $400 \mu\text{g L}^{-1}$ dans les systèmes aquatiques à l'étude et que ces concentrations sont au minimum 100 fois plus élevées que les concentrations réelles, il a été possible d'éviter les étapes de préconcentration et de nettoyage de matrice par SPE, qui étaient nécessaires pour quantifier les concentrations réelles. Des tests préliminaires ont tout de même été effectués pour optimiser les paramètres de préparation de l'échantillon, afin d'obtenir des pics de forme Gaussienne, synonyme d'une bonne efficacité analytique. En pratique, les pics ne sont pas jamais parfaitement symétriques. Le pic de désorption présenté ici-bas donne une bonne idée du genre de pic attendu (**Figure 1.15**). Ils seront

décrits en détail plus loin. Dans la section qui suit, les paramètres LDTD et MS/MS de la méthode utilisée et développée précédemment [1] seront brièvement présentés, sous forme de tableaux. La méthode analytique a été utilisée intégralement, telle qu'elle a été développée.

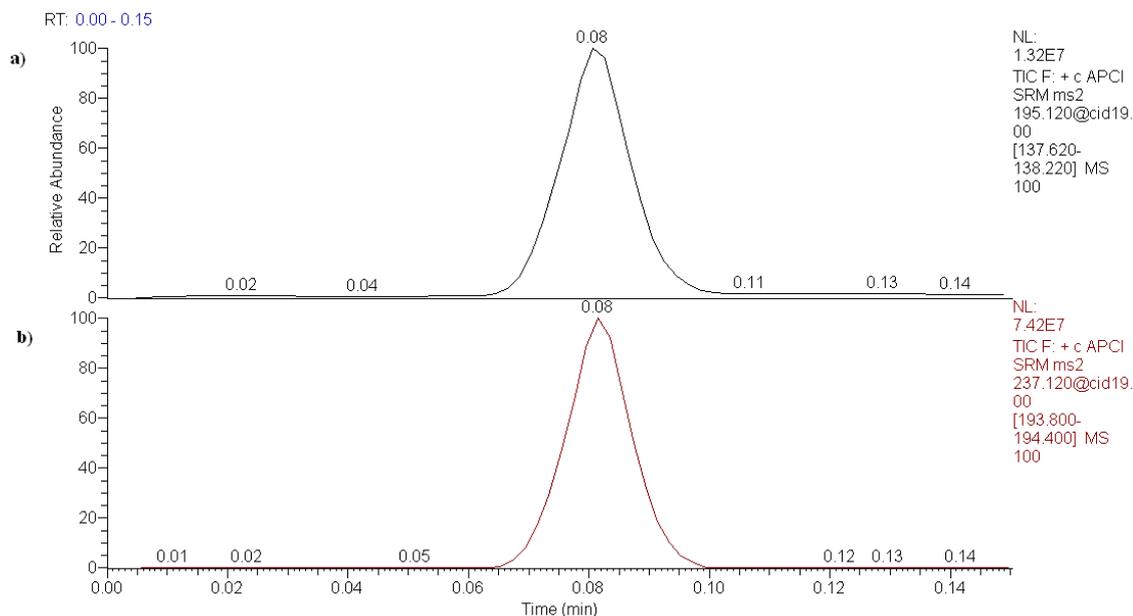


Figure 1.15 Pics de désorption de a) Caféine (Ion parent $[M+H]^+$ de $m/z = 195$ et ion fragment $[M+H]^+$ de $m/z = 138$) et b) Carbamazépine (Ion parent $[M+H]^+$ de $m/z = 237$ et ion fragment $[M+H]^+$ de $m/z = 194$), dans l'effluent du décanteur primaire d'eau usée dopé en analytes à $400 \mu\text{g L}^{-1}$. NL représente l'intensité normalisée du pic (u.a.).

Tableau I-1 Paramètres LDTD pour la quantification des neuf composés à l'étude en mode d'ionisation positive (+) par la LDTD-APCI-MS/MS

Caractéristiques de la méthode LDTD	
Puissance Laser à 980 nm & 20 W	0.30
	2 sec à 0%
Patron Laser	1 sec de 0 à 30%
	0.01 sec de 30% à 0%
Température du capillaire	50 °C
Flux du gaz vecteur	3.0 L min ⁻¹
« Ion sweep gas »	0.3 u.a.
« Sheath gas »	0
Gaz auxiliaire	0
« Skimmer offset »	0
Température du vaporisateur	0

Tableau I-2 Méthodes LDTD et étalons internes associés aux analytes pour leur quantification par la LDTD-APCI-MS/MS

Méthode LDTD ⁱ	Composé	Étalon interne
1	AT DEA	[¹³ C ₃]-ATZ
2	E2 EE2 NOR	[¹³ C ₆]-E2
3	CBZ CAF	CBZ-d ₁₀ [¹³ C ₃]-CAF
4	SMX DCF	[¹³ C ₆]-SMX DCF-d ₄

ⁱ Il y a quatre méthodes analytiques en tout parce que le système LDTD ne peut pas supporter plus que huit transitions (quatre composés) en même temps. Elles ont toutes les mêmes caractéristiques.

Tableau I-3 Paramètres MS/MS pour la quantification des neufs composés à l'étude en mode d'ionisation positif (+) par la LDTD-APCI-MS/MS

Composé	Mode d'ionisation	Ion précurseur [M+H] ⁺ (m/z)	Ion fragment (m/z)	TL (V)	CE (eV)
ATZ	(+)	216.12	131.9 173.9	70	23
DEA	(+)	188.1	103.9 145.9	60	27
E2	(+)	255.18	133.1 159.1	70	18
EE2	(+)	279.1	133.1 159.1	55	18
NOR	(+)	299.205	109.1 91.1	89	39
CBZ	(+)	237.12	192.1 194.1	65	24
CAF	(+)	195.12	109.9 137.9	69	21
SMX	(+)	254.06	107.9 156.1	55	24
DCF	(+)	296.01	215.0 249.9	63	12
[¹³ C ₃]-ATZ	(+)	219.11	106.0 177.0	71	30
[¹³ C ₆]-E2	(+)	261.18	133.1 159.0	73	20
CBZ-d ₁₀	(+)	247.17	202.1 204.1	72	36
[¹³ C ₃]-CAF	(+)	198.11	112.1 140.1	72	24
[¹³ C ₆]-SMX	(+)	260.08	114.1 162.0	61	22
DCF-d ₄	(+)	300.26	219.1 254.1	69	21

2. Mise en place du protocole expérimental

Il existe des méthodes standardisées pour mesurer la biodégradation d'un composé dans un système précis. La majorité d'entre-elles proviennent de l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE) et de l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) [100]. Les tests d'une organisation possèdent leur équivalent dans l'autre, et vice-versa. Par exemple, les tests OCDE 301 A et ISO 7827 s'équivalent, de même que les tests OCDE 301 F et ISO 9408. Que ce soit pour des raisons de logistiques ou tout simplement parce que l'objectif de ces méthodes standardisées s'éloignent quelque peu du but du projet de maîtrise, il ne fut pas possible d'utiliser tel quel l'une de ces méthodes pour arriver à nos fins. Pour mesurer la biodégradation des neuf contaminants émergents dans l'effluent du décanteur primaire, un protocole inspiré de l'une de ces méthodes ainsi que d'expériences similaires rapportées dans la littérature [18, 27, 82, 90] a été utilisé. Néanmoins, le plus d'éléments possibles issus de la méthode standardisée ont été intégrés dans le protocole expérimental.

L'OCDE a classé les méthodes standardisées pour mesurer expérimentalement la biodégradation d'un composé organique dans la phase aqueuse d'un système environnemental en quatre catégories. Ils se subdivisent en sous-catégories pour répondre aux besoins de tous, selon l'objectif recherché et le milieu à tester. Ils possèdent tous différents coûts, réalisme et degrés de complexité. La première catégorie de tests se nomme test de biodégradabilité facile et permet de déterminer si le composé se dégrade ou non dans des conditions aérobiques ne favorisant pas la biodégradation. Le deuxième test, le test de biodégradabilité intrinsèque, est similaire au premier mais dans des conditions favorisant la biodégradation. Le troisième est un test de simulation environnementale permettant de mesurer les paramètres de cinétique. Finalement, le dernier test est un test de biodégradabilité anaérobie. Il est généralement utilisé pour mesurer la biodégradation d'un composé dans un digesteur anaérobie et n'est donc pas approprié pour notre projet ; il n'a donc pas été retenu [101].

En plus des méthodes expérimentales, il existe aussi des méthodes mathématiques qui estiment ou prévoient les phénomènes de dégradation de composés. Certaines méthodes sont plutôt simples et ne permettent que de classer un composé comme facilement biodégradable ou non alors que d'autres permettent, comme les méthodes expérimentales, de calculer les paramètres de cinétique. Les estimations sont faites à

partir d'analyses statistiques intégrant les structures des composés et leurs descripteurs moléculaires, ces paramètres physico-chimiques connus pour toutes les molécules. Le coefficient de partition octanol-eau (K_{ow}), la constante d'acidité (pK_a), le rayon Van der Waals (γ) ou les fréquences typiques sortant dans l'infrarouge figurent parmi les propriétés pouvant être utilisées. Les méthodes statistiques de structure et propriétés moléculaires ne devraient cependant être employées que quand aucune manipulation expérimentale n'est possible. Elles ne prennent pas en compte toutes les variables présentes dans un système environnemental et sont sujettes à de très grandes incertitudes pour leur application environnementale [102].

Les tests de biodégradabilité facile, de biodégradabilité intrinsèque et de simulation seront brièvement décrits ici-bas et la méthode standardisée sur laquelle nous nous sommes basés pour créer le protocole sera expliquée.

2.1. Choix de la méthode standardisée pour les études de dégradation biologique

2.1.1. Test de biodégradabilité facile

Ces tests [103] sont effectués dans des conditions aérobiques avec une concentration élevée de composé (normalement entre 2 et 100 mg L⁻¹) qui est très loin des concentrations réelles (de l'ordre du ng L⁻¹), ce qui n'est pas idéal ici. Le phénomène de dégradation est suivi en mesurant l'évolution de paramètres non spécifiques comme le carbone organique dissous (DOC), la demande biochimique en oxygène (BOD) ou le dioxyde de carbone (CO₂), ce qui est avantageux parce que la méthode s'applique à tous les composés organiques. Cependant, non seulement nous ne disposons pas d'appareils pour effectuer ce type de mesure en continu mais en plus, dans un environnement réel, il n'y a pas que les composés à l'étude qui agissent comme source de carbone. Les paramètres du test sont tels qu'un résultat positif est sans équivoque : le composé est classé comme facilement biodégradable, sa dégradation sera rapide et ultime dans tout environnement. Ses conditions sont donc toujours les mêmes et ne permettent pas de mesurer la biodégradation dans un environnement spécifique, ce qui ne répond évidemment pas à l'objectif du projet. Il existe 6 méthodes de biodégradabilité facile. Le choix d'une par rapport à l'autre dépend principalement des caractéristiques physico-chimiques du composé à l'étude. Peu importe le test choisi, il n'est pas effectué dans un milieu environnemental mais plutôt dans une solution minéraleensemencée par un

inoculum et incubée dans des conditions précises. La standardisation de la méthode fait en sorte que la composition et les concentrations d'éléments dans l'inoculum et dans la solution minérale sont fixes. Il est donc clair que ce test ne répond pas aux objectifs de l'expérience. De plus, il ne permet pas de calculer les paramètres de cinétique du composé car il implique une analyse non-spécifique. Cela veut aussi dire que la quantification de plusieurs composés en simultané n'est pas possible, ce qui complique les choses car neuf composés sont étudiés ici. Pour toutes ces raisons et puisque de toutes façons un des objectifs du projet est d'utiliser une méthode d'analyse spécifique pour suivre les concentrations de composés dans le temps (LDTD-MS/MS), le test de biodégradabilité facile n'a pas été considéré.

2.1.2. Test de biodégradabilité intrinsèque

Ce test est effectué dans des conditions favorisant la dégradation, c.-à-d. des conditions où le ratio microorganismes sur composé est très élevé [104-106]. Contrairement au test de biodégradabilité facile qui est effectué dans des conditions ne favorisant pas la biodégradation, un résultat positif ne permet pas de conclure que le composé se biodégrade dans tout type de milieu. Il permet seulement de classer un composé comme biodégradable dans le milieu à l'étude, en prenant soin de spécifier si les microorganismes ont été pré-adaptés au composé à l'étude. Les mesures peuvent se faire par analyse spécifique, ce qui permet de mesurer la biodégradation primaire, ou par analyse non spécifique, ce qui permet de mesurer la biodégradation totale. Les quatre méthodes standardisées sont les 302 A-D de l'OECD. À prime abord, ce test semble être approprié pour mesurer la biodégradation dans l'effluent du décanteur primaire. Un survol du contenu des 3 protocoles standardisés disponibles (302 A-C) a démontré qu'aucun ne pourrait être utilisé pour l'étude. Les tests 302 A et B s'adressent à des systèmes de boues activées ou un système d'aération alors que le test 302 C implique un respiromètre et des analyses chimiques non spécifiques.

2.1.3. Test de simulation : la méthode choisie

Le test de simulation est idéal pour mesurer la biodégradation d'un composé dans un environnement spécifique [107]. En plus de simuler le mieux les conditions à l'étude, qu'elles soient celles d'un compartiment environnemental comme l'eau de surface ou celles d'un réacteur d'usine de traitement d'eau usée, les paramètres de cinétique peuvent en être tirés. Pour simuler les conditions environnementales, la biomasse et les

solides utilisés doivent être indigènes, la concentration de l'inoculum réaliste (10^6 - 10^9 bactéries L^{-1}) et la température adéquate car celle-ci influence k . La concentration en analyte dopée est faible (de 1 à 100 $\mu g L^{-1}$) de façon à ce que celle-ci ne s'éloigne pas trop des concentrations réelles du composé à l'étude et que sa cinétique de dégradation soit la plus représentative du milieu possible. Un résultat positif peut seulement être extrapolé à la réalité si la concentration utilisée est du même ordre. Des concentrations plus élevées sont cependant acceptées pour vérifier les métabolites. De plus, comme c'est souvent le cas quand il n'existe pas de méthodes analytiques spécifiques ayant des LOD permettant l'utilisation de concentrations aussi faible, des concentrations plus élevées sont habituellement utilisées et acceptées. L'évolution du composé à l'étude dans le temps est mesurée par marquage isotopique au carbone-14 ou par d'autres techniques analytiques spécifiques. Suivi à la lettre, le test permet d'obtenir la constante de dégradation du composé, la demi-vie, la constante de demi-saturation, le taux de croissance spécifique maximal, la fraction du carbone marqué minéralisé, l'identification et la concentration des métabolites majeurs. Les caractéristiques générales de cette méthode standardisée correspondent le plus à ce qui est recherché dans le cadre du projet. C'est donc en se basant sur la méthode standardisée OECD 309 [107] ainsi que sur d'autres protocoles publiés ayant des buts similaires aux nôtres que nous avons développé notre design expérimental [18, 27, 82, 90]. Comme dans notre cas seule la constante de dégradation et la demi-vie nous importaient, des modifications y ont été apportées pour alléger le tout. Les procédures 303 A-B de l'OECD sont utilisées respectivement pour simuler des boues activées et des biofilms, alors que dans l'étude présente c'est plutôt la biodégradation dans l'effluent du décanteur qui intéresse. Ce milieu, même s'il est très chargé en matière organique, en nutriments de toutes sortes et en bactéries, s'apparente plus à celui d'une eau très sale qu'à des boues ou des biofilms et c'est pourquoi la méthode 309 conçue pour les eaux de surface a été choisie.

2.2. Tests préliminaires

Préalablement aux expériences de cinétiques, des tests préliminaires ont été effectués. Ici-bas sont présentés les résultats de ces tests.

2.2.1. Solvant de déposition pour le LDTD-APCI-MS/MS

Le solvant de déposition dans les plaques LDTD influence l'intensité du pic/l'aire du pic, sa forme et la variabilité sur le signal obtenu. Tel que mentionné dans à 1.6.4. ,

l'échantillon n'a pas subi de préparation pré-analyse si ce n'est que de le reconstituer dans un solvant organique, contrairement à la méthode de Boisvert *et al.* [1] qui inclut une étape d'extraction sur phase solide. Le solvant de déposition a donc été testé pour optimiser les trois paramètres énoncés en début de paragraphe. Le test pour choisir le solvant de déposition n'a cependant pas été exhaustif. Le solvant optimal identifié précédemment (MeOH) a été testé ici, sous trois combinaisons : sans ajout de solvant (l'aliquote brute de l'eau analysé), dilué à 50 % dans du MeOH et reconstitué dans du MeOH à 100% (**Figure 2.1**). Le MeOH a été choisi parce que c'est ce solvant qui s'est avéré le meilleur dans l'étape de reconstitution des études antérieures [1]. Les concentrations finales des neuf composés ciblés (analytes) dans les trois conditions sont de $150 \mu\text{g L}^{-1}$ et le volume de déposition choisi de $3 \mu\text{L}$. Cette concentration a été choisie parce que qu'elle correspond au centre de la gamme qui a été utilisée pour les courbes de calibrations.

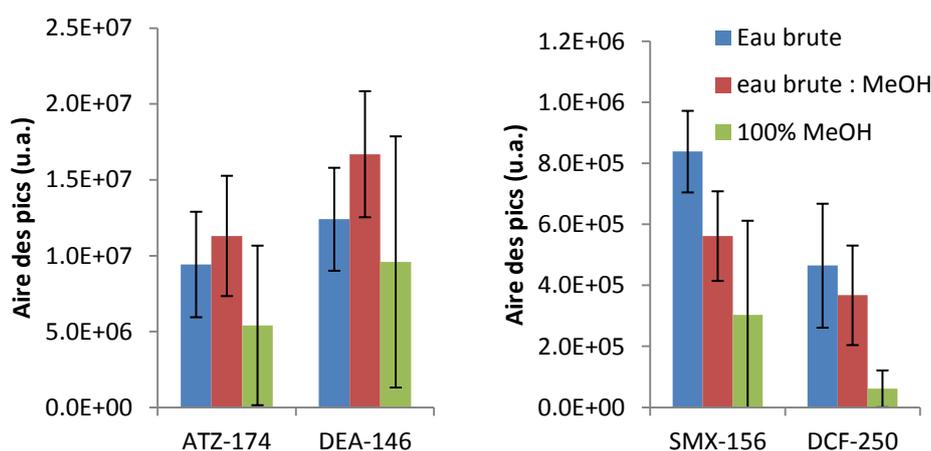


Figure 2.1 Aire des pics (u.a.) pour des solutions de ATZ, DEA, SMX et DCF reconstituées dans différentes matrices à $150 \mu\text{g L}^{-1}$. Les barres d'erreurs représentent l'écart-type sur la mesure ($n = 5$), et le chiffre après le nom du composé représente le rapport m/z ($[M+H]^+$) de l'ion fragment choisi.

Ci-dessus, seuls les résultats des méthodes analytiques 1 et 4 (**Tableau I-2**) sont présentés car ils possèdent les deux composés les plus problématiques. Les signaux de DEA et DCF sont généralement très variables et ne sont pas de forme Gaussienne comme les autres composés. Les écart-types sur le graphique (**Figure 2.1**) sont difficiles à interpréter à cause des échelles. Les écarts-types relatifs donnent une meilleure idée des variabilités sur le signal, spécialement lorsque l'aliquote est reconstitué dans du MeOH à 100%. Ils sont respectivement de 97.3%, 86.3% 102 et 99.0% pour les quatre composés ATZ, DEA, SMX et DCF, respectivement, ce qui est énorme. De plus, les

aires des pics sont toutes largement inférieures dans cette condition. Ces deux phénomènes pourraient être dus à la faible tension superficielle du méthanol de 22.95 mN m^{-1} à 20°C [108], ce qui rendait la déposition de l'aliquote dans le puits de la plaque LDTD très difficile. Comme le MeOH fuyait du capillaire de la pipette Eppendorf, la quantité déposée au centre du puits variait beaucoup plus qu'avec un mélange 1 :1 eau-méthanol ou qu'avec seulement de l'eau, celle-ci ayant une tension superficielle idéale pour la déposition (72.75 mN m^{-1} à 20°C) [108].

Les différences au niveau des aires de pics et des variabilités des signaux entre un dépôt dans de l'eau à 100% et dans du MeOH à 50% n'étaient pas substantielles. Cependant, la forme des pics était plus Gaussienne dans le mélange dilué au solvant organique. Pour cette raison, il a été établi que tous les dépôts d'aliquotes se feraient dans une matrice diluée 50% au MeOH. Non seulement cela s'est traduit par de meilleurs signaux dans la matrice la plus sale (effluent du décanteur primaire d'eau usée), mais en plus, l'étape de séchage des puits étaient beaucoup plus rapide de cette façon. Tous les tests subséquents ont été effectués dans ces conditions.

2.2.2. Volume de déposition

Les volumes de déposition choisis ont été de $3 \mu\text{L}$ pour les expériences de cinétique dans l'eau de surface filtrée $0.45 \mu\text{m}$ (exp #I et II) et de $5 \mu\text{L}$ pour celles dans l'effluent du décanteur primaire (exp #III et #IV), sauf pour les composés de la méthode analytique 4 (**Tableau I-2**) pour laquelle $3 \mu\text{L}$ ont été déposés. Comme pour le solvant de déposition, aucun test exhaustif n'a été effectué pour en arriver à ce choix, le but n'étant pas d'optimiser ce paramètre mais plutôt de trouver une valeur qui quantifierait les analytes adéquatement. Initialement, le volume de déposition a été fixé arbitrairement à $3 \mu\text{L}$ parce qu'en LDTD, les valeurs utilisés se trouvent presque toujours entre 2 et $5 \mu\text{L}$, comme il a été expliqué à la **section 1.6.1.a**. Un test a été effectué pour vérifier l'efficacité de ce choix. Un aliquote de $3 \mu\text{L}$ de matrice contenant $200 \mu\text{g L}^{-1}$ des neufs composés et $50 \mu\text{g L}^{-1}$ des étalons internes a été déposé dans des puits ($n = 5$). Deux matrices ont été testées, soient les deux types d'eau à l'étude : une eau de surface filtrée $0.45 \mu\text{m}$ et un effluent de décanteur primaire d'eau usée brute. À ceux-ci a été rajoutée une eau MQ comme matrice servant de contrôle pour des fins de comparaison. Suite aux conseils de collègues ayant affirmé que l'effet de matrice de l'effluent du décanteur allait probablement diminuer le signal, un volume de déposition de $5 \mu\text{L}$ a été rajouté au test. Ce plus grand volume a été choisi parce que des travaux précédents [96] ont démontré qu'une augmentation de la quantité de composé dans la

cavité du puits LDTD (via l'augmentation du volume de déposition) pourrait améliorer l'intensité des pics. La **Figure 2.2** présente les résultats.

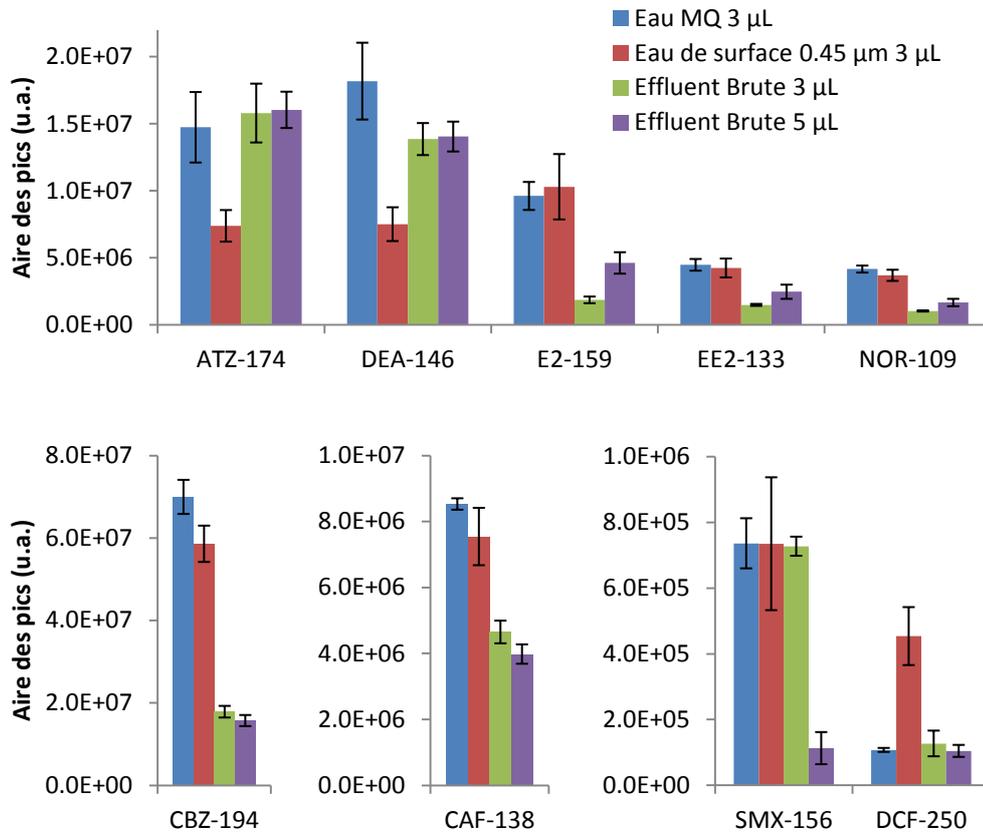


Figure 2.2 Résultats des aires des pics (u.a.) des neuf composés en fonction du volume de déposition pour différentes matrices d'eau. Les barres d'erreur représentent l'écart-type sur la mesure (n=5) et le chiffre après le nom du composé représente le rapport m/z ($[M+H]^+$) de l'ion fragment choisi.

Le résultat démontre qu'un volume de 3 µL est correcte pour analyser les neuf composés dans l'eau de surface filtrée 0.45 µm (expériences #I et #II), avec des aires moyennes se situant entre 4×10^5 u.a. et 6×10^7 u.a. et des RSD tous en dessous de 20%, sauf pour E2 et SMX avec des valeurs respectivement de 23.7 % et 27.5 %. Ces deux valeurs, quoi qu'un peu élevées, sont acceptables compte tenu du fait que l'étalon interne ajouté corrige significativement l'erreur sur la mesure et que quand cela ne résout pas totalement le problème, une valeur peut être exclue si elle respecte les critères d'exclusion (qui seront décrits plus loin en détail). Par rapport aux signaux dans le contrôle d'eau distillée, aucune interférence n'a été notée sauf pour les signaux des deux herbicides (ATZ et DEA) qui baissent significativement dans l'eau de surface. Ce n'est toutefois pas un problème car les aires des pics restent suffisamment intenses pour ne pas essayer d'autres volumes de déposition.

Pour ce qui est de l'effluent du décanteur primaire d'eau usée, en comparant les résultats à 3 μL par rapport au contrôle, on voit que la matrice interfère négativement pour cinq composés : les 3 hormones ainsi que CBZ et CAF. L'aire des pics des quatre autres (ATZ, DEA, SMX et DCF) se comparent au contrôle. Dans la même matrice, le dépôt de 5 μL d'aliquote a augmenté l'aire de pics des 3 hormones significativement alors que pour SMX, elle a diminué considérablement. Pour tous les autres composés, les aires des pics n'étaient pas statistiquement différentes en passant de 3 à 5 μL (**Figure 2.2**). C'est donc dire que l'augmentation du volume n'a pas eu l'effet escompté, même en augmentant la quantité de composé cristallisé dans le puits LDTD. Cela est possiblement dû à l'augmentation de la quantité de matrice cristallisée. Cette matrice étant très sale, elle a peut-être emprisonné les analytes dans le puits, interférant ainsi avec leur désorption thermique pour diminuer le signal. Il se peut aussi que des composés ayant une affinité protonique élevée faisant partie de la matrice aient été désorbés, entrant ainsi en compétition avec des analytes [96]. Comme l'effet du volume de déposition de 5 μL était positif ou sans conséquence significative pour tous les composés sauf SMX dans l'effluent du décanteur primaire, c'est ce volume qui a été choisi pour les méthodes analytiques 1, 2 et 3. Pour ce qui est de la quatrième méthode, 3 μL ont été utilisés pour ne pas nuire au signal de SMX. Puisque tout au long du projet, ces volumes de déposition ont contribué à la production de résultats répliquables et répétables (sauf pour le DCF qui sera expliqué à la **section 2.2.3.**), il est juste de supposé que ces résultats seraient tout autant reproductibles.

2.2.3. Optimisation de l'analyse du diclofénac (DCF)

Ce composé a posé problème tout au long du projet. En plus de posséder l'aire des pics la plus faible de tous les analytes à l'étude, les résultats des premières séries d'analyse préliminaires lancées dans l'eau de surface ont démontré des problèmes de répliquabilité et de répétabilité pour le diclofénac. Ce phénomène a aussi été noté par l'auteur de la méthode analytique que nous avons utilisé [109]. Comme tous les paramètres analytiques avaient déjà été optimisés, l'hypothèse a été émise qu'à cause de facteurs externes inconnus, le diclofénac n'est tout simplement pas un composé apte à subir d'analyse LDTD de façon efficace. Néanmoins, je me suis penché sur la question pour essayer d'optimiser l'analyse dans le contexte du projet de maîtrise.

2.2.3.a. Optimisation des paramètres analytiques

Les paramètres du spectromètre de masse « *chrome filter peak width* » et « *scan time* » ainsi que le patron laser du LDTD ont été réévalués en boucle pour s'assurer qu'il n'y aurait pas d'améliorations à apporter de ce côté. Les différentes combinaisons testées sont présentées dans le tableau ci-dessous. L'essai 1 représente la méthode initiale de [1].

Tableau II-1 Combinaisons évaluées pour améliorer l'analyse du diclofénac (n=6)

Essai	Chrome filter peak width (s)	Temps de scan (s)	Patron laser (temps et puissance)				
1a [1]	1	0.005	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30 %,	0.01 s de 30 à 0 %	n.a.	n.a.
2	4	0.005	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30 %,	0.01 s de 30 à 0 %	n.a.	n.a.
3	4	0.01	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30 %,	0.01 s de 30 à 0 %	n.a.	n.a.
4	1	0.01	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30 %,	0.01 s de 30 à 0 %	n.a.	n.a.
5	1	0.015	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30 %,	0.01 s de 30 à 0 %	n.a.	n.a.
6	1	0.008	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30 %,	0.01 s de 30 à 0 %	n.a.	n.a.
7a	1	0.006	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30 %,	0.01 s de 30 à 0 %	n.a.	n.a.
1b [1]	1	0.005	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30 %,	0.01 s de 30 à 0 %	n.a.	n.a.
7b	1	0.006	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30 %,	0.01 s de 30 à 0 %	n.a.	n.a.
8	1	0.006	1 s à 0 %,	0.5 s de 0 à 30%,	0.1 s à 30 %,	0.2 s de 30 à 0 %,	1.2 s à 0 %
9	1	0.006	1.5 s à 0 %,	0.5 s de 0 à 30%,	0.1 s à 30 %,	0.2 s de 30 à 0 %,	1.2 s à 0 %
10	1	0.006	2 s à 0 %,	1.5 s de 0 à 30%,	0.1 s à 30 %,	0.1 s de 30 à 0 %,	0.5 s à 0 %
11a	1	0.006	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30%,	0.1 s à 30 %,	0.1 s de 30 à 0 %,	0.8 s à 0 %
12	1	0.006	2 s à 0 %,	0.5 s de 0 à 30%,	0.1 s à 30 %,	0.1 s de 30 à 0 %,	0.8 s à 0 %
11b	1	0.006	2 s à 0 %,	1 s de 0 à 30%,	0.1 s à 30 %,	0.1 s de 30 à 0 %,	0.8 s à 0 %

Le test a été effectué dans la matrice des expériences #I et #II, soit l'eau de surface filtrée 0.45 µm diluée à 50 % dans du MeOH (n=6). Les concentrations utilisées étaient de 200 µg L⁻¹ pour les analytes et les étalons internes. La forme des pics, leur aire et l'écart-type relatif sur les mesures ont été considérés pour évaluer les différentes combinaisons d'éléments. Parmi tous les essais, seul l'essai numéro 11 a amélioré ces paramètres. Même si la différence n'était pas significative par rapport aux paramètres fixés par Boisvert *et al.* [1], la méthode a été enregistrée et a été utilisée pour la quantification de SMX et DCF pour toute la durée du projet. En dernier lieu, une séquence a été lancée pour confirmer cette conclusion. Les résultats sont présentés ci-dessous.

Tableau II-2 Aire des pics et écart-type relatif de la méthode originelle [1] par rapport à la nouvelle méthode choisie pour SMX, DCF et leur composé marqué SMX* et DCF* (n=6)

Méthode	Paramètre	Composé			
		SMX	SMX*	DCF	DCF*
Originelle [1]	Aire du pic	2.04 x10 ⁶	2.58 x10 ⁶	3.10 x10 ⁵	2.64 x10 ⁵
	Écart-type	6.19 x10 ⁵	7.48 x10 ⁵	1.23 x10 ⁵	1.00 x10 ⁵
	Écart-type relatif (%)	30.4	29.0	39.8	38.0
optimisée	Aire du pic	2.15 x10 ⁶	2.67 x10 ⁶	2.67 x10 ⁵	2.43 x10 ⁵
	Écart-type	3.27 x10 ⁵	2.03 x10 ⁵	4.58 x10 ⁴	4.02 x10 ⁴
	Écart-type relatif (%)	15.2	7.6	17.1	16.6

2.2.3.b. PH des solutions de déposition LDTD

L'optimisation du « *chrome filter peak width* », des paramètres du laser et du temps de scan n'a cependant pas réglé le problème de répliquabilité et de répétabilité du diclofénac. Je me suis donc penché sur la question du pH de la solution de déposition dans la cavité du puits LDTD, car ce dernier peut influencer significativement l'efficacité de la désorption de l'analyte. Il a été démontré qu'en LDTD, un composé désorbe mieux quand il se trouve sous forme neutre. Hors, selon l'intervalle de pH des matrices qui seront analysées tout au long du projet (**Table III-3**), le diclofénac se retrouverait chargé négativement lorsque déposé dans la cavité des puits (**Tableau II-9**). Une série de test a donc été effectuée pour vérifier l'effet du pH de la solution déposée dans le puits sur l'aire du pic de diclofénac, son « *response ratio* », c.-à-d. le ratio de l'aire de son pic sur celui de son étalon interne, et leur écarts-type respectif. Tous les tests ont été effectués dans de l'eau de surface filtrée 0.45 µm avec des concentrations de 200 µg L⁻¹ en analyte et 100 µg L⁻¹ en étalon interne. L'acidification a été effectuée avec de l'acide formique et la basification avec de l'hydroxyde de sodium.

Tableau II-3 Effet du pH de la solution de déposition dans le puits LDTD sur l'aire du pic (u.a.) du diclofénac et son « *response ratio* » (n=8)

Eau	pH	Charge DCF	Moyenne aire _{pics}	Écart-type relatif (%)	Response ratio	Écart-type relatif (%)
acidifiée	2.18	N	4.36 x10 ⁵	43.5	2.36	10
acidifiée	2.48	N	5.67 x10 ⁵	31.8	2.49	13.5
acidifiée	2.86	N	5.99 x10 ⁵	35.2	2.69	8.5
contrôle	7.89	(-)	1.39 x10 ⁵	24.6	2.26	19
basifiée	9.86	(-)	1.55 x10 ⁵	35.7	2.21	12
basifiée	11.1	(-)	3.21 x10 ⁴	23.5	1.82	32.2
basifiée	11.9	(-)	1.05 x10 ⁴	55.8	1.95	60.3

Le premier constat est que le diclofénac ne peut définitivement pas être déposé sur le puits en milieu basique. À partir d'un pH autour de 11, l'aire de ses pics diminue significativement et la variabilité sur son RR, facteur le plus important car c'est avec celui-ci qu'est quantifié le composé, est très élevée. Les résultats ne sont pas présentés mais le constat était le même pour SMX avec des écart-types relatifs sur le RR de 22 à 83%. L'acidification de la matrice ne semble pas changer quoi que ce soit par rapport au contrôle, avec des valeurs d'aire, de RR et d'écart-types relatifs qui ne semblent pas suivre de tendance quelconque.

Un deuxième test impliquant deux essais à quelques jours d'intervalle pour vérifier la répétabilité du résultat a quand même été effectué pour confirmer que l'acidification de la matrice permettant au diclofénac d'être neutre une fois déposé dans le puits n'améliorerait pas la variabilité sur son analyse.

Tableau II-4 Effet du pH de la solution de déposition dans le puits LDTD sur l'aire du pic du diclofénac et son « *response ratio* » (n=4)

Eau	Essai 1						Essai 2				
	pH	Charge DCF	Moyenne aire _{pics}	Écart-type relatif (%)	RR	Écart-type relatif (%)	pH	Moyenne aire _{pics}	Écart-type relatif (%)	RR	Écart-type relatif (%)
acidifiée	2.8	N	2.38 x10 ⁵	14.9	2.88	16.7	2.90	2.28 x10 ⁵	8.3	3.14	12.4
contrôle	7.5	(-)	3.14 x10 ⁵	17.2	3.05	18.0	7.48	2.70 x10 ⁵	27.2	3.39	8.4

Les résultats ont confirmé la conclusion tirée du premier test, les aires moyennes des pics du diclofénac n'augmentant pas avec l'acidification de la solution et les écart-types relatifs sur les paramètres évalués ne suivant pas de tendance.

2.2.3.c. Revêtement de EDTA sur la cavité des puits LDTD

Un dernier test a été effectué pour optimiser l'analyse du diclofénac dans le contexte du projet de maîtrise. Il s'agissait d'ajouter une couche d'acide éthylène diamine tétracétique (EDTA) sur les puits en acier inoxydable avant d'y déposer la matrice à quantifier. L'EDTA est un excellent agent chélateur. Grâce à ses six sites basiques, il peut former des complexes métalliques très stables, notamment avec le cuivre, le fer et le manganèse [110].

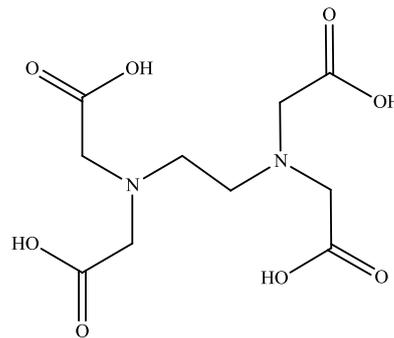


Figure 2.3 Structure de l'acide éthylène diamine tétracétique (EDTA)

Dans l'optique où le problème d'analyse du diclofénac était relié à une mauvaise efficacité de la désorption thermique, l'ajout d'EDTA aurait pu potentiellement régler le problème. L'EDTA viendrait former des complexes métalliques dans le puits à la place du diclofénac lorsqu'ajouté avant la matrice, diminuant ainsi significativement la complexation du diclofénac avec le métal constituant le puits et possiblement facilitant sa désorption par la suite.

Pour ce faire, 8 μL d'une solution d'EDTA 220 mg L^{-1} préparée dans un mélange eau MQ : méthanol (50%) pour reproduire les conditions de l'expérience ont été déposés dans une série de puits. Après séchage au four pendant 15 min, la matrice à analyser a été déposée dans les puits appropriés pour ensuite être quantifiée. Comme pour les autres mesures préliminaires, le test a été effectué dans une eau de surface filtré 0.45 μm , (200 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour les analytes et 100 $\mu\text{g L}^{-1}$). Un contrôle d'eau MQ a été ajouté, avec et sans ajout d'EDTA (n=5). Comme le DEA démontrait des problèmes d'analyse similaires au DCF (quoi que moins importants), le phénomène a aussi été évalué pour les composés de la méthode 1. Les résultats sont présentés à la **Figure 2.4**.

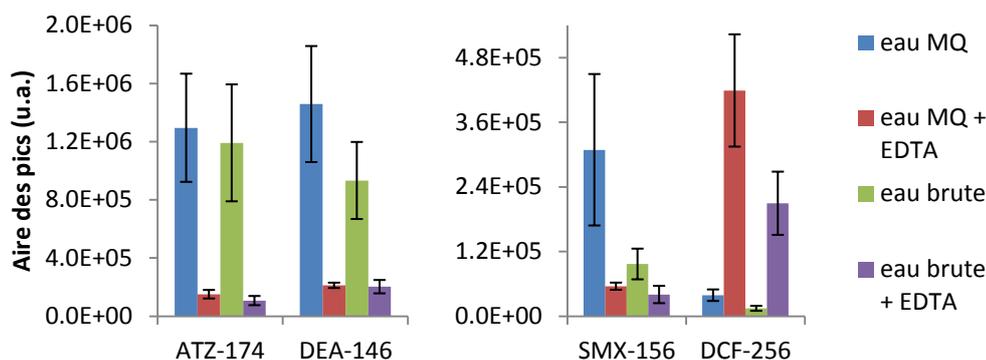


Figure 2.4 Aire des pics (u.a.) d'ATZ, DEA, SMX et DCF avec et sans revêtement de EDTA. Les barres d'erreurs représentent l'écart-type sur la mesure (n=5) et le chiffre après le nom du composé représente le rapport m/z ($[M+H]^+$) de l'ion fragment choisi.

Pour ce qui est des composés de la méthode 1 (ATZ et DEA), l'ajout d'EDTA n'aide définitivement pas comme en témoignent les importantes baisses de signal quand le produit est utilisé. La tendance est la même pour le SMX. Cependant, le résultat est très intéressant pour le diclofénac. Le signal est 10 fois plus élevé avec le revêtement d'EDTA, le signal passant de 1.45×10^4 à 2.10×10^5 dans l'eau brute. Les tendances sont les mêmes pour les échantillons de contrôle.

Malgré ce résultat positif, il a été choisi de ne pas utiliser d'EDTA car SMX et DCF doivent être traités ensemble (méthode 4, **Tableau I-2**). Cette caractéristique de la méthode de *Boisvert et al.* [1] a l'avantage de diminuer significativement le temps de préparation des échantillons, le temps d'analyse et la consommation de produits et de plaques LDTD. Par contre, la combinaison des deux composés peut aussi être une limitation, comme c'est le cas ici. Avec des effets antagonistes, il fallait donc choisir entre l'amélioration de l'analyse d'un composé au détriment d'un autre. Comme l'utilisation d'EDTA requérait plus de temps par analyse et que la quantification du SMX ne posait pas de problèmes, il a été décidé de ne pas changer le protocole. De plus, même avec l'augmentation de l'aire de ses pics, la variabilité des résultats d'analyse de DCF ne s'est pas significativement améliorée dans cette matrice (**Figure 2.5** ci-dessous).

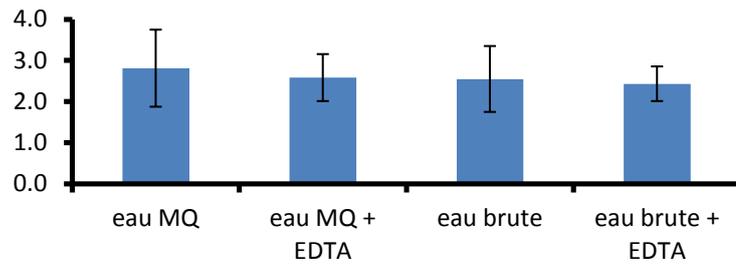


Figure 2.5 Response ratio (u.a.) pour le diclofénac à une concentration de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ dans une eau brute avec et sans utilisation du revêtement d'EDTA dans la cavité du puits LDTD. Les barres d'erreur représentent l'écart-type sur la mesure (n=5).

Néanmoins, ce résultat positif pour diclofénac démontre le potentiel de l'utilisation d'EDTA pour optimiser l'analyse de composés par LDTD-APCI-MS/MS. N'eut été de la présence d'un autre composé dans la méthode, cette technique aurait été utilisée dans le protocole actuel.

2.2.4. Choix de la bouteille

Avant même de lancer les premières expériences de cinétique à long terme, il faut choisir le type de bouteille dans lesquelles les systèmes seront testés. Le type de bouteille idéal est celui qui minimisera les pertes de composés par sorption sur ses parois. Comme la biodégradation est mesurée par quantification des composés dans la phase aqueuse dans le temps, des pertes trop importantes de composés par sorption pourraient fausser les résultats. Un test similaire à celui de [111] a donc été effectué.

Comme la mesure de la photolyse ne faisait pas partie des objectifs du projet, le type de bouteille utilisée devait bloquer ce phénomène. Trois type de bouteilles ont donc été testés : en verre ambré, en verre ambré traité et en polymère HDPE. Le traitement du verre sert à le désactiver, car les groupements hydroxyyles qui y sont présents peuvent servir de sites de sorption pour les composés polaires. Ce pourrait notamment être le cas de ATZ, DEA, CBZ, CAF et SMX, qui possèdent tous des polarités importantes, comme le démontre leur $\text{Log } K_{ow}$ (**Table III-1**). Pour ce faire, un agent silanisateur est utilisé. Cet agent viendra bloquer les sites de sorption du verre en se liant lui-même à ces derniers. Dans notre cas, c'est le diméthylchlorosilane qui a été utilisé selon une procédure conventionnelle [112].

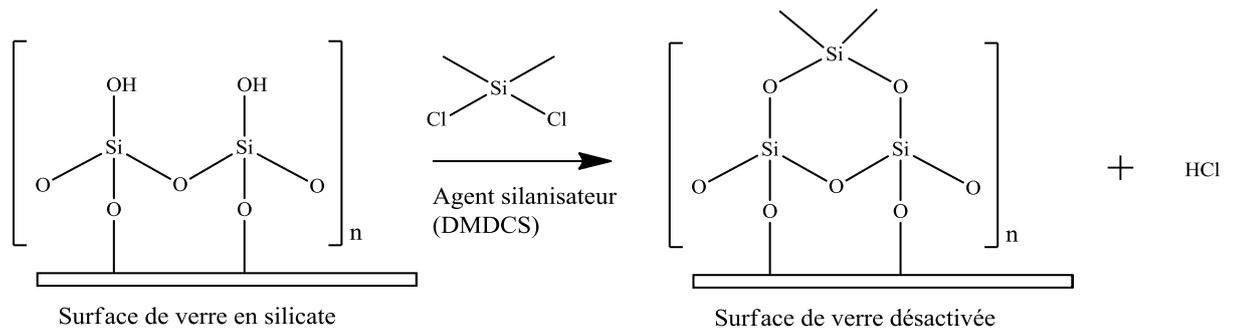


Figure 2.6 Réaction de silanisation du verre (SiO_2) par le diméthylchlorosilane [113]

La sorption a été testée dans des duplicatas sur 14 jours pour s'assurer que le phénomène avait atteint l'équilibre et que les résultats seraient représentatifs de ce qu'il se passerait à long terme. Les neufs composés ont donc été ajoutés à la concentration prévue pour les expériences de cinétique ($400 \mu\text{g L}^{-1}$) dans les trois types de bouteilles étudiées. Après une première quantification à T_0 , les bouteilles ont été stockées à 4 et 20 °C pour recréer des conditions de stockage similaires aux expériences de cinétique. La matrice utilisée était de l'eau distillée pour éviter que d'autres mécanismes entrent en compétition. Une deuxième quantification a été effectuée deux semaines plus tard et les résultats ont été rapportés sous forme de graphiques en pourcentage résiduel de composé dans la phase aqueuse par rapport à T_0 .

Il a été établi, tout comme Vanderford *et al.* [111], qu'un composé n'est pas affecté par la sorption pour des pourcentages résiduels finaux entre 85 et 115% dans la phase aqueuse. Contrairement aux autres composés, les concentrations de deux des trois hormones (E2, et EE2) ont diminué dans toutes les conditions testées. Le phénomène peut être en partie attribué à la sorption mais les résultats du projet et l'information recueillie dans la littérature suggèrent plutôt que les composés se seraient dégradés. Pour les autres composés, les résultats du test (**Figure 2.7**) semblent démontrer que le verre ambré serait le type de bouteille idéal, les composés subissant moins de pertes qu'avec le verre ambré traité et le polymère HDPE. Cela est quelque peu surprenant car le traitement du verre aurait dû minimiser l'adsorption et le HDPE ne possède pas de site de sorption, étant formé de monomère de $(\text{C}_2\text{H}_2)_n$. Les résultats ne sont toutefois pas très différents (**Figure 2.7**).

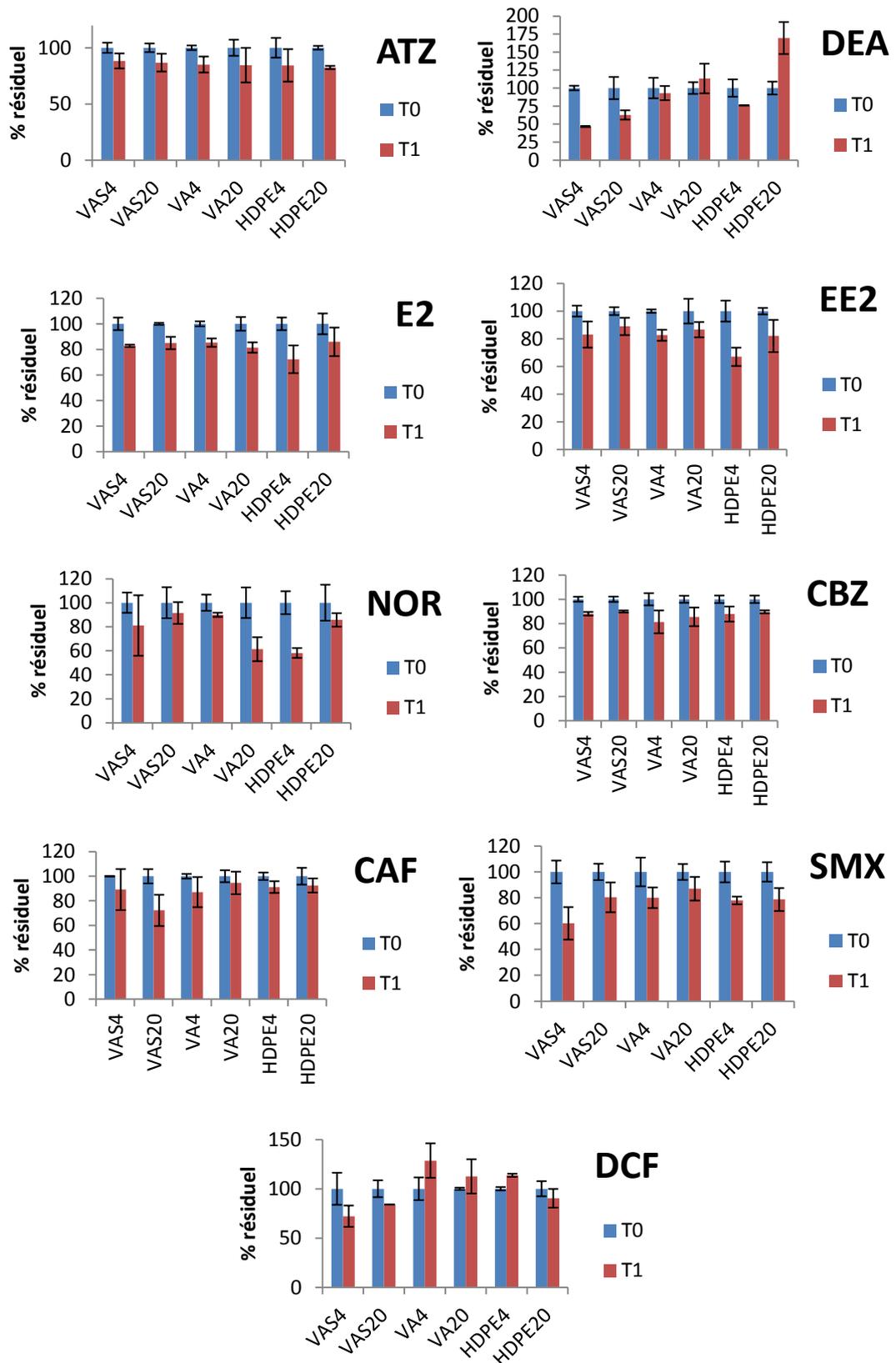


Figure 2.7 Pertes de composés par sorption sur les parois internes de bouteilles après 14 jours d'incubation à 4 et 20 °C pour une concentration initiale de $\approx 400 \mu\text{g L}^{-1}$ dans l'eau distillée où VAS = verre ambré silanisé, VA = verre ambré et HDPE = polyéthylène à haute densité. Les barres d'erreur représentent l'écart-type relatif sur la mesure (n=3) par bouteille.

2.2.5. Facteur de correction pour le barbotage des systèmes à l'air

Grâce à l'air qui s'y diffuse, les eaux de surfaces sont toujours relativement riches en oxygène dissous. Malgré tout, le taux d'oxygène dissous dans une eau fluctue beaucoup au cours d'une année. En général, une eau de surface douce contient entre 11 et 13 mg L⁻¹ en hiver et entre 6 et 10 mg L⁻¹ en été, ce phénomène s'expliquant par la capacité d'une eau à retenir plus d'oxygène dissous en eaux froide [114]. Par exemple, à pression atmosphérique, une eau à 5 °C contenant 9 mg L⁻¹ en sels et en chlore est considérée comme saturée en oxygène dissous à 12.024 mg L⁻¹. Cette concentration de saturation passe à 8.174 mg L⁻¹ à 20.0 °C [115]. Il a été jugé que pour l'expérience #I, l'espace libre laissé dans les bouteilles et l'ouverture fréquente de celles-ci pour la quantification assurerait une diffusion d'air suffisante alors que les bouteilles de l'expérience #II ont été barbotées 60 min par jour tout au long de la cinétique afin de comparer. Pour permettre la circulation d'air, il n'était donc pas possible d'utiliser au système étanche aux gaz.

Le bullage de solutions tests dans les mêmes conditions que celles de l'expérience a démontré que l'eau s'évaporerait progressivement sous l'action du bullage. Cet effet ne serait pas significatif à court terme mais le serait pour des cinétiques portées sur plusieurs semaines. Un facteur de correction a donc été utilisé pour corriger les concentrations en analytes mesurées, qui auraient été surestimées sans ce dernier. Puisque les composés à l'étude sont non-volatiles, l'évaporation de l'eau préconcentrerait la matrice. Le phénomène a été confirmé par des tests préliminaires quand la concentration d'ATZ a augmenté dans le temps et que celle d'E2 est restée stable alors que l'on s'attendait respectivement à ce qu'ils restent stables et se dégradent. Les concentrations des composés à l'étude ont donc été corrigées comme suit :

$$[C]_r = \gamma [C]_m \quad (1)$$

Où

- $[C]_r$ est la concentration réelle du composé en $\mu\text{g L}^{-1}$
- $[C]_m$ est la concentration du composé mesurée par la méthode analytique en $\mu\text{g L}^{-1}$
- γ est le facteur de correction

$$m_{T_n} = M_{T_n} - v \quad (2) \quad \gamma = \frac{m_{T_n} + (0.5(n+1))}{m_{T_0}} \quad (3)$$

Où

- m_{T_n} est la masse de la matrice en mg après prise de l'aliquote à T_n
- M_{T_n} est la masse de la bouteille et de la matrice en mg après prise de l'aliquote à T_n
- v est la masse de la bouteille vide en mg
- $(0.5(n+1))$ est la correction sur la m_{T_n} pour l'aliquote de 0.5 mg pris à chaque T_n

2.3. Inhibition de la flore bactérienne

Il était très important de trouver une façon de minimiser l'activité bactérienne dans les échantillons appropriés (contrôles) pour pouvoir mesurer adéquatement l'apport de la dégradation chimique dans les eaux à l'étude. Dans les paragraphes suivants, une petite revue de toutes les méthodes disponibles pour inhiber les micro-organismes est présentée. Deux techniques ont été choisies et la mise en place du protocole par rapport à cet aspect du projet est décrite en détails.

2.3.1. Stériliser un milieu complexe sans en altérer la chimie et l'analyse des composés : la problématique

Trois classes de facteurs influencent l'action antimicrobienne; le micro-organisme lui-même, l'agent utilisé et l'environnement à l'étude.

L'action d'un agent antimicrobien est définie par un spectre d'activité, les désinfectants et les antiseptiques étant efficaces sur un spectre très large de bactéries, contrairement aux antibiotiques qui eux sont plus spécifiques. L'agent antibactérien idéal devrait posséder toutes ces qualités : posséder un grand spectre antibactérien, être soluble et stable quelques soient les conditions du milieu, ne pas se désactiver au contact de matière organique, ne pas altérer la matrice, ne pas être toxique pour l'humain, être efficace à long terme et à faibles doses et finalement être abordable. Dans le cadre de ce projet, la bactéricide ne devait pas non plus altérer l'analyse par LDTD-MS/MS. Nul n'a besoin de spécifier qu'il a été difficile de trouver une méthode répondant à tous ces critères.

Évidemment, plus la concentration d'un antibactérien est élevée, plus il sera efficace. Il se peut donc qu'il soit bactériostatique à une concentration, bactéricide à une concentration deux fois supérieure, encore plus efficace à une concentration trois fois supérieure et qu'une concentration quatre fois plus élevée ne soit pas plus efficace que la précédente. Plus la durée du traitement est longue, plus l'action antimicrobienne sera importante. La solubilité du biocide aura aussi un rôle important à jouer car il réagira en pénétrant dans la cellule bactérienne. Sa stabilité chimique sera tout aussi importante, certains agents se dégradant rapidement dans l'eau. Finalement, plus la température et la pression seront élevées, plus leur action sera efficace.

La composition de l'environnement à l'étude est également un facteur influençant l'action antibactérienne. Contrairement à ce qui a été dit ci-dessus, la température peut aussi diminuer l'action bactéricide. Un antibiotique, par exemple, est généralement peu stable à hautes températures. Le pH du milieu à l'étude influe aussi sur l'efficacité du phénomène. Dictant la forme chimique de l'agent utilisé, ce paramètre est tout aussi important; forme dissoute ou solide, adsorption sur les particules favorisées ou non, etc. La turbidité du milieu influencera aussi le phénomène. Dans le cas d'une stérilisation par radiations, les particules en suspension empêcheront ces dernières de pénétrer profondément dans l'eau et protégeront ainsi les micro-organismes. La présence de calcium et de magnésium dans un milieu, représentée par la dureté, diminue normalement l'action antimicrobienne. En dernier lieu, un paramètre très important dans le cas de la présente étude car elles sont présentes en grande quantité dans l'eau usée : les matières organiques. Celles-ci réduisent substantiellement l'effet d'un bactéricide car ce dernier se combinera avec elles par adsorption pour diminuer sa concentration en solution, l'inactiver, le précipiter ou carrément l'éliminer [116]. Plus le milieu est complexe, comme c'est le cas ici avec l'effluent du décanteur primaire d'eau usée, plus il sera difficile de maximiser l'effet antibactérien sans altérer la matrice. Il était donc primordial de choisir celui qui offrait le meilleur compromis entre les deux.

2.3.1.a. Stérilisation versus désinfection

Dans les études de biodégradation similaires à celle-ci trouvées dans la littérature, peu d'auteurs prennent le temps de nuancer les termes « stérilisation » et « désinfection ». Ils assument plutôt que leurs échantillons de contrôles sont des échantillons stériles.

Pourtant, par définition [116], la stérilisation d'un échantillon représente la destruction totale de la flore bactérienne d'un échantillon ou objet, de façon à ce que non seulement il ne reste plus de micro-organismes dans le milieu mais que ces derniers ne puissent pas se redévelopper à long terme. Le résultat doit donc être permanent. Cela veut donc dire que pour que l'appellation soit correcte, non seulement l'inhibition microbienne initiale doit être extrêmement efficace mais en plus, l'échantillon ne peut pas être contaminé en cours de cinétique. Cela représentait tout un défi pour les expériences #III et #IV car l'effluent du décanteur primaire d'eau usée possède une flore microbienne très dense et sa composition est propice à la croissance microbienne, même après élimination de cette dernière.

Il n'a pas été possible de stériliser complètement les eaux à l'étude dans le cas de ce projet de maîtrise. Les résultats de dégradation chimique dans l'effluent du décanteur primaire (**Table III-4**) démontrent néanmoins que l'inhibition microbienne a été suffisante pour minimiser la dégradation biologique dans les échantillons appropriés. Dans ce cas, on parle plutôt de désinfection. Celle-ci représente toute action antimicrobienne menant à une réduction de la flore bactérienne, quelle que soit son niveau. La désinfection agit sur le moment mais elle peut être vulnérable s'il y a recontamination après l'application.

2.3.2. Agents physiques

2.3.2.a. La température et la pression

L'autoclave par chaleur humide est un traitement par vapeur d'eau saturée à haute température et pression dans une enceinte hermétique [117] et c'est le traitement utilisé par excellence dans les expériences de dégradation de composés organiques dans les systèmes aquatiques [18, 27, 82, 85]. Cependant, dans un environnement aussi dense en bactéries qu'une eau usée, les bactéries thermorésistantes sont nombreuses et la stérilisation par cette technique serait donc difficile à atteindre, et altérerait probablement le milieu; il a été démontré qu'un traitement à l'autoclave diminuait significativement le carbone organique et inorganique et augmentait de façon importante le nitrate dans des eaux pluviales urbaines [118]. Comme la composition de l'effluent du décanteur primaire d'eau usée est très complexe et que cette technique l'altérerait, elle n'a pas été considérée pour produire les échantillons de contrôles.

Un bon moyen d'éviter l'altération de l'eau est en procédant par tyndallisation. Cette technique consiste à chauffer quelques minutes à environ 70 degrés durant 3 jours consécutifs. La technique ne pourrait cependant pas être utilisée dans le cadre du projet car une fois échantillonnée, l'eau doit être utilisée le plus rapidement possible. Dans un même ordre idée, la pasteurisation, qui par chauffage modéré inhibe la flore microbienne sans changer les équilibres chimiques du milieu [116], ne pourrait pas être utilisée car elle ne stérilise pas.

2.3.2.b. Les radiations

Les radiations [116] UV sont utilisées dans le traitement des eaux mais leur faible profondeur de pénétration (quelques millimètres) fait en sorte qu'elles ne seraient pas efficaces pour l'effluent du décanteur primaire d'eau usée, ce dernier possédant une turbidité non négligeable.

Les rayons X et γ auraient pu être une bonne solution de rechange car leur profondeur de pénétration est supérieure mais leur utilisation est coûteuse et leurs radiations auraient notamment altérées les matières organiques dans l'eau[116].

2.3.2.c. L'élimination mécanique : la méthode choisie pour les expériences #I et #II

La filtration et la centrifugation sont des techniques d'élimination mécanique [116]. La seconde n'a pas été considérée car elle ne permet pas l'élimination complète des bactéries, même en milieu faiblement contaminé comme une eau de rivière brute (expériences #I-II). Par contre, pour le même type d'eau, la filtration pourrait s'avérer être un excellent procédé pour arriver à une stérilisation complète, en autant que la bonne porosité de filtre soit utilisée. L'utilisation de membranes filtrantes comme celles à base de nitrate de cellulose permet la rétention complète de tout composé de taille supérieure à celle de la porosité du filtre, ce qui permet donc d'enlever les souches bactériennes thermolabiles, plus difficiles à effectuer par chauffage. C'est aussi une méthode abordable et rapide, car tous les instruments nécessaires pour sa réalisation étaient déjà disponibles au laboratoire. Il allait donc de soit d'y aller avec cette méthode pour les expériences #I-II, celles-ci ayant pour but de mesurer la dégradation chimique dans une eau de surface typique pour les neuf composés à l'étude. Les eaux ont donc été filtrées 0.45 μm avec des filtres en nitrate de cellulose.

Il serait cependant faux d'affirmer que les eaux des expériences #I-II aient été stérilisées, surtout après interprétation des résultats, comme il a déjà été expliqué au **Chapitre 1**. Elles auraient plutôt été désinfectées significativement car le seul type de bactéries ayant pu passer à travers le filtre était les mycoplasmes. Celles-ci ont des tailles de l'ordre de 0.1 μm et sont généralement peu présente par rapport à la densité bactérienne totale. C'est donc dire que seule des techniques de nanofiltration auraient pu contrer ce problème. Pourtant, la plupart des protocoles de stérilisation consultés recommandait l'utilisation de filtres de 0.22 μm à 0.45 μm pour un effet optimal dans le contexte de l'étude [119-121].

Le peu de bactéries restantes après filtration a donc pu croître. Considérant que l'eau de surface n'est pas particulièrement chargé en nutriments, spécialement après filtration, la multiplication bactérienne subséquente restait improbable mais pas impossible. Un autre facteur à considérer était la possibilité de recontamination des eaux à long terme, à force d'ouvrir les bouteilles pour y prélever des aliquotes destinés à l'analyse sur toute la période à l'étude. C'est peut-être pour cette raison que des composés ont commencé à se dégrader très lentement après une longue phase de latence dans les expériences #I-II alors que tout indiquait après les premiers mois que la contribution de la dégradation chimique était nulle (**Table III-4**).

2.3.3. Agents chimiothérapeutiques

2.3.3.a. Les antibiotiques

L'utilisation des antibiotiques n'a jamais été considérée pour le projet car même si certains sont d'efficaces bactéricides, leur effet est spécifique et leur spectre antibactérien est généralement petit. Un micro-organisme qui présente une résistance naturelle envers un antibiotique le sera aussi pour tous les antibiotiques de cette famille pour des raisons biochimiques [116]. Des mesures préliminaires (voir **section 2.4.3.b.**) ont suggéré que la concentration de SMX (analyte à l'étude et antibiotique) utilisée pour les expériences de cinétique (400 $\mu\text{g L}^{-1}$) pourrait avoir des effets délétères (bactéricides) sur la population bactérienne. Il a donc été analysé individuellement par mesure préventive.

2.3.4. Agents chimiques

2.3.4.a. Les oxydants

Parmi les oxydants se trouvent les peroxydes, reconnus comme étant efficaces à une concentration de 3% dans l'eau. Des concentrations entre 10 et 30 % sont cependant nécessaires pour inhiber les spores, ce qui altérerait le système à l'étude ici [122].

Le chlore et ses dérivés pourraient être considérés, sauf que l'emploi de ceux-ci aux pH des milieux à l'étude (6.5 à 7.5) est corrosif. Ils sont normalement utilisés en milieu alcalin (pH > 8). Malheureusement, il a été prouvé qu'à ces valeurs, certains analytes ne sont pas quantifiables par les méthodes LDTD-MS/MS utilisées (**section 2.2.3.b.**)

L'iode est un désinfectant utilisé depuis longtemps mais il est insoluble dans l'eau, sans compter son inactivation par la matière organique.

Les alcools sont utilisés et leur efficacité est proportionnelle à leur poids moléculaire et à leur solubilité dans l'eau. Un alcool comme le méthanol est soluble dans l'eau mais est le moins efficace. C'est surtout la quantité à ajouter dans l'eau qui ne permet pas leur utilisation ici, comme en témoignent les pourcentages d'éthanol utilisés normalement pour la conservation d'aliments (50 à 70%) [116].

2.3.4.b. Les phénols et aldéhydes

L'action des phénols, est fortement diminuée par la matière organique et est faiblement efficace contre les formes sporulées [116].

2.3.4.c. Le cas de l'azoture de sodium, NaN_3

Le NaN_3 est un des agents chimiques les plus utilisés pour empêcher la dégradation biologique dans les études *in vitro*, que ce soit dans des compartiments environnementaux comme les sols [123] ou l'eau [124], ou dans des unités pilotes de traitement d'eau usée [125-127]. Malheureusement, Ro *et al.* [128] a démontré que le composé ne peut pas être utilisé pour produire des échantillons contrôle dans des études de biodégradation impliquant l'atrazine, car il dégrade le pesticide.

2.3.4.d. Les métaux traces : la méthode choisie pour l'expérience #IV

Les sels de métaux traces sont parmi les plus efficaces et les plus utilisés, notamment parce que leurs effets sont substantiels à de très faibles concentrations (ordre du ng L^{-1} au mg L^{-1}) et que leurs formes actives ont des affinités pour les protéines cellulaires, les acides nucléiques et les membranes [129]. Leur utilisation, plus précisément celle du nitrate d'argent AgNO_3 et du sulfate de cuivre CuSO_4 , a donc été considérée pour préparer les échantillons de contrôle des expériences sur l'effluent du décanteur primaire d'eau usée. Comme la forme libre d'un métal est la plus toxique, l'objectif ici était d'utiliser les deux métaux sous cette forme. Il a été démontré que combinaison des ions Ag^+ et Cu^{2+} peut avoir des effets synergiques à fortes concentrations alors qu'à faibles concentrations, les effets sont plutôt additifs. Une chose est certaine : leur combinaison est plus efficace que leur utilisation individuelle [130]. Lorsque la DNA est dans son état relaxé, elle peut se répliquer mais elle perd ce pouvoir lorsque les ions Ag^+ pénètrent à l'intérieur de la cellule bactérienne, forçant la DNA à se condenser, ce qui mène à la mort de la cellule. Il a aussi été reporté que l'ion réagit avec la protéine en se liant aux groupements thiols, inactivant celle-ci [131].

2.3.5. Mise en place du protocole expérimental pour l'inhibition de la flore bactérienne par l'ajout de nitrate d'argent et de sulfate de cuivre

Une recherche préliminaire a été effectuée pour déterminer dans quelles conditions les métaux étaient les plus toxiques et des tests ont été effectués pour vérifier la compatibilité de la méthode analytique dans de telles conditions. La spéciation chimique est la distribution des espèces chimiques du composé dans un milieu, un échantillon ou une matrice [132]. Elle affecte la biodisponibilité d'un composé, c.-à-d. sa capacité à se déplacer à l'intérieur d'un organisme [133]. Dans le cas d'un biocide envers un microorganisme, cela affecterait donc sa toxicité.

2.3.5.a. Les concentrations à ajouter

La concentration totale en métal ajoutée dans un milieu aquatique ne représente pas la concentration effective. Cette dernière dépend d'une panoplie de facteurs reliés au système à l'étude comme le pH, la dureté, la salinité, le potentiel rédox et la matière organique et inorganique. La forme la plus biodisponible d'un métal est celle d'ion libre, les complexes avec les colloïdes et le particulaire étant plutôt inerte [134].

Un des facteurs affectant la biodisponibilité d'un métal est à la capacité d'échange cationique du milieu où il se trouve. Dans tout environnement, un site chargé négativement peut servir de site de sorption pour un métal en forme libre. Les parois des bouteilles en verre Si-OH et les acides humiques possédant des groupements fonctionnels pouvant interagir avec les métaux tels les carbonyles, carboxyles et hydroxyles figurent parmi les sites potentiels qui pourraient interagir avec les métaux dans le cadre du projet. Dans des conditions aérobiques/oxydantes, les métaux se retrouvent souvent sous forme libre et sont donc biodisponibles pour les bactéries alors que c'est le contraire dans les milieux anaérobiques/réducteurs, dans lesquels ils vont plutôt précipiter avec les sulfures. Dans un décanteur d'eau usée, le taux d'oxygène diminue avec la profondeur du compartiment. C'est en quelque sorte ce qu'on a essayé de recréer dans le cadre du projet, tel que mentionné plus tôt. On ne peut donc pas catégoriser le système d'oxydant ou de réducteur. La modification du pH permet cependant d'éviter les problèmes potentiels reliés à l'absence d'oxygène dans le milieu à l'étude.

En effet, à des pH alcalins, les plupart des métaux se retrouvent complexés avec des phosphates et des carbonates insolubles et ne sont donc pas très efficaces comme biocides. En abaissant le pH, les formes les plus toxiques sont favorisées : les métaux libres ioniques et les organométaux solubles [129].

La solubilité des deux produits utilisés pour insérer l'argent et le cuivre au système est très élevée à pH naturel (**Tableau II-5** ci-dessous). Cependant, l'effluent est très complexe. Un projet complet aurait pu être effectué sur l'influence de la composition d'une eau sur la spéciation du cuivre et de l'argent. Comme le but ici n'était que de maximiser la présence des formes libres dans l'effluent, seul le pH a été ajusté dans les échantillons car ce dernier est un facteur déterminant.

Tableau II-5 Solubilité du nitrate d'argent et du sulfate de cuivre dans l'eau

Composé	Solubilité dans l'eau ⁱ (g L ⁻¹)	Température (°C)
AgNO ₃	1200	0
	9520	190
CuSO ₄	243	0
	754	100

ⁱ Toutes les valeurs proviennent de la base de données HSDB

Les concentrations en cuivre et argent inorganique inhibant 50 % des espèces bactériennes à l'étude (espèce unique ou communauté complète) sont généralement de l'ordre du $\mu\text{g L}^{-1}$ dans des milieux synthétiques et des compartiments aquatiques environnementaux. Dans des milieux aussi denses en microorganismes, en souches résistantes et en nutriments comme l'eau usée, ces concentrations peuvent cependant être beaucoup plus élevées. Il est très difficile de comparer des valeurs de toxicité issues de bioessais car les valeurs dépendent des espèces à l'étude, de la durée d'exposition et du type de milieu. Néanmoins, des valeurs de toxicité envers des communautés bactériennes de l'ordre du mg L^{-1} pour différentes formes d'argent dans un bioréacteur donnait une idée de ce qui était requis dans le cadre du projet.

Tableau II-6 Pourcentage d'inhibition d'espèces bactériennes à différentes concentrations et formes d'argent dans un bioréacteur [135]

Concentration μM (mg L^{-1})	Nanoparticules d'Argent (75% entre 10 et 20 nm)	Ions Ag^+	Colloïdes AgCl (0.25 μm)
	% Inhibition de la croissance bactérienne nitrifiante autotrophe (SD)		
9.3 (1.0)	86 (3)	42 (7)	46 (4)
	% Inhibition de la croissance bactérienne hétérotrophe E. Coli (SD)		
1.4 (0.15)	17 (5)	11 (4)	7 (4)
2.8 (0.3)	30 (6)	69 (6)	24 (5)
4.2 (0.5)	55 (8)	100	66 (6)
9.3 (1)	100	100	100

La toxicité de l'argent, du mercure et du cuivre envers cinq espèces bactériennes résistantes dans les eaux usées a été testée dans des plaques agar, les biocides ajoutés sous forme de nitrate d'argent, de chlorure de mercure et de sulfate de cuivre. L'argent s'est avéré être le plus toxique avec des CMI sur 48 heures de 300-1200 μM suivi du mercure avec 1200 μM et du cuivre, significativement moins toxique, avec des valeurs de 6000 μM [136]. Ces valeurs correspondent à des concentrations de l'ordre de quelques centaines de mg L^{-1} , ce qui est énorme. Une étude similaire a été effectuée sur des bactéries résistantes isolées de plusieurs systèmes aquatiques tels des eaux de surface, des eaux polluées et des effluents d'hôpitaux. Les CMI de mercure, ajouté sous forme de sulfate de mercure HgSO_4 , et de cuivre, ajouté sous forme de sulfate de cuivre CuSO_4 , étaient respectivement de 1.5 à 30 mg L^{-1} et de 5 à 400 mg L^{-1} [137]. Preuve que les résultats sont très diversifiés, dans des milieux environnementaux propres, seulement 0.01 mg L^{-1} de sulfate de cuivre ont été nécessaires pour réduire la population

bactérienne d'une à deux ordres dans la colonne d'eau d'un lac et de 87 % dans l'eau d'un étang [138].

Les concentrations choisies pour inhiber les microorganismes dans les échantillons contrôles de l'effluent du décanteur primaire d'eau usée ont été de 150 μM de CuSO_4 et d' AgNO_3 . Elles correspondent respectivement à des concentrations totales en Cu^{2+} et Ag^+ d'environ 9.5 et 16 mg L^{-1} .

2.3.5.b. Maximiser les formes libres Ag^+ et Cu^{2+}

Quant est-il des concentrations biodisponibles pour les bactéries ? La répartition totale de l'argent dans les affluents bruts de décanteurs secondaires d'usines de traitement d'eaux usées canadiennes suggère qu'un bon pourcentage de l'argent ajouté se retrouvera sous forme particulaire et colloïdale à long terme [139]. Même si l'auteur a fait le test pour des concentrations naturelles, notre milieu s'apparente aux milieux testés et dans ceux-ci, 45-50 % de tout l'argent se retrouvait sous forme particulaire, 25-30% sous forme colloïdale et 15-20 sous forme dissoute. Comme la forme colloïdale est toxique (**Tableau II-6**), ce voudrait quand même dire que la moitié de tout l'argent ne serait pas biodisponible pour les bactéries.

En abaissant le pH de l'effluent de 7.5 à 4.5, les formes libres des métaux augmenteront et l'inhibition bactérienne dans le milieu à l'étude sera améliorée. Les **Tableau II-7** et **Tableau II-8** montrent des exemples de spéciation chimique des deux métaux utilisés en fonction du pH en milieu aquatique.

Tableau II-7 Principales espèces chimiques inorganiques du cuivre se retrouvant dans une eau de surface typique selon le pH [140]. Les conditions rédox n'influencent pas les formes principales du cuivre à un même pH.

pH	4		7		10	
	oxydant	réducteur	oxydant	réducteur	oxydant	réducteur
Cuivre	Cu^{2+}		Cu^{2+} , CuOH^+ , CuHCO_3^+		$\text{Cu}(\text{OH})_2$, $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{2-}$	

Tableau II-8 Les espèces chimiques de l'argent et du cuivre mesurées dans des eaux douces dopées en cations métalliques à 50 nM et composées de 5×10^{-4} M en carbonates, de 2×10^{-4} M en chlorures et de 1×10^{-4} M en sulfates [141].

pH	Métal	Ion libre	$M(OH)^{n-1}$	$M(OH)_2^{n-2}$	MSO_4^{n-2}	MCO_3^{n-2}	$MHCO_3^{n-1}$	MCl^{n-1}
6	Ag^+	70.5	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	28.8
6	Cu^{2+}	90.3	2.9	< 1	2.1	3.8	< 1	< 1
8	Ag^+	70.5	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	28.8
8	Cu^{2+}	5.4	17.3	3.5	< 1	73	< 1	< 1

2.3.5.c. Tests préliminaires

Avant de lancer la cinétique, quelques tests ont été effectués pour s'assurer que les séries d'échantillons d'effluents du décanteur primaire d'eau usée acidifiés et concentrés en métaux seraient compatibles avec la méthode analytique.

Une comparaison entre l'aire des pics des neufs composés à l'étude a donc été effectuée entre un échantillon brut (pour qui la méthode a déjà été validée) et un échantillon acidifié et concentré en métaux, pour s'assurer que le signal ne changerait pas à un point tel que la variabilité de l'analyse serait compromise (**Figure 2.8**). La **Figure 2.9** présente les résultats du même test en termes de RR, car c'est avec ce paramètre que sont quantifiés les analytes dans les matrices.

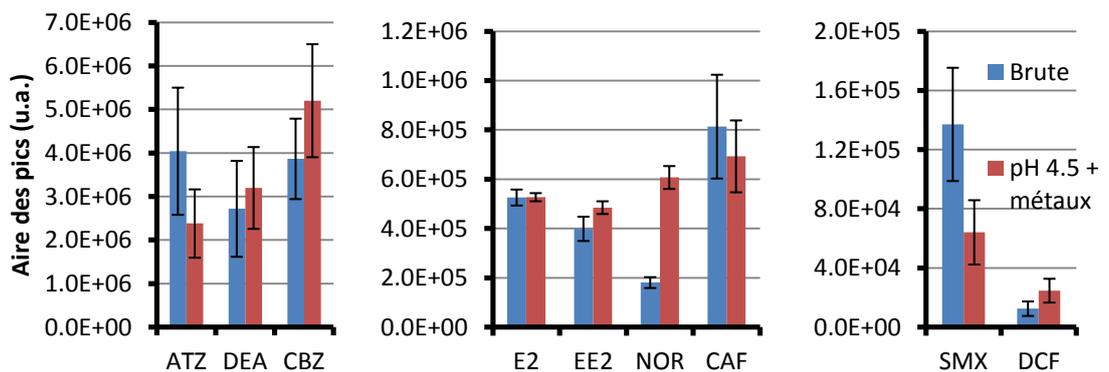


Figure 2.8 Comparaison entre l'aire des pics (u.a.) des neufs composés à l'étude \pm SD ($n=5$) pour des concentrations de $400 \mu\text{g L}^{-1}$ dans l'effluent du décanteur primaire d'eau usée brute et dans la même matrice acidifié à pH 4.5 à l'acide formique dans laquelle $150 \mu\text{M}$ de $CuSO_4$ et $150 \mu\text{M}$ de $AgNO_3$ ont été ajoutés.

Ces résultats suggèrent que pour tous les composés, sauf NOR, SMX et DCF, l'acidification de la matrice et l'ajout des deux métaux n'influencent pas significativement l'aire des pics, les résultats des deux conditions à l'étude n'étant pas statistiquement différents l'une de l'autre. Pour ce qui est de NOR et DCF respectivement, les conditions favorisant l'inhibition biologique triple et double le signal. Comme les signaux de ces deux composés étaient suffisamment élevés dans la matrice brute, leur variabilité ne devrait pas être affectée négativement dans les nouvelles conditions. Le seul composé pour qui le signal diminue est SMX, le signal diminuant environ de moitié, passant de l'ordre de 10^5 et 10^4 . Cela pourrait affecter la variabilité des analyses, le signal étant faible. L'interprétation des RR ci-dessous devrait donner une meilleure indication de l'ampleur du phénomène.

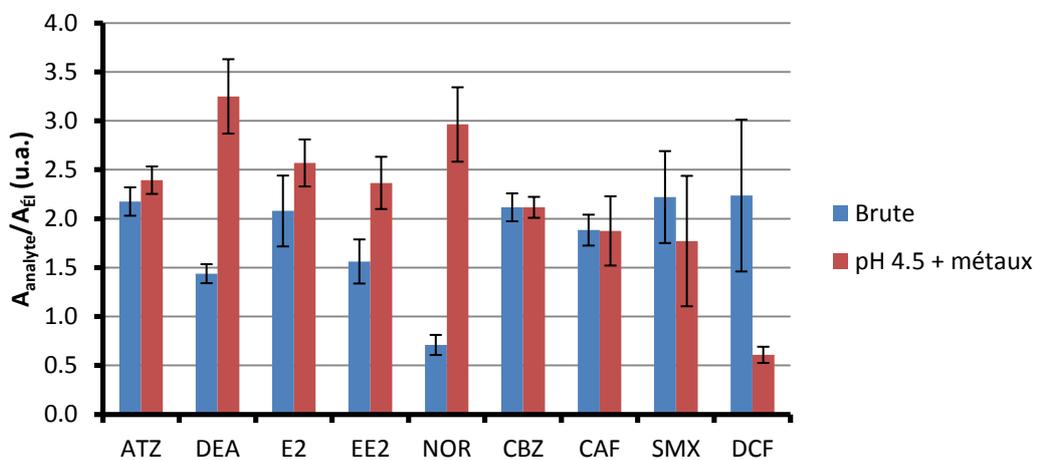


Figure 2.9 Comparaison entre le RR (u.a.) des neuf composés à l'étude \pm SD ($n=5$) pour des concentrations de $400 \mu\text{g L}^{-1}$ dans l'effluent du décanteur primaire d'eau usée brute et dans la même matrice acidifié à $\text{pH} = 4.5$ à l'acide formique dans laquelle $150 \mu\text{M}$ de CuSO_4 et de AgNO_3 ont été ajoutés.

Pour quatre des neuf composés (DEA, EE2, NOR et DCF), les RR des deux conditions à l'étude sont statistiquement différents (**Figure 2.9**). Cela veut donc dire qu'une courbe de calibration par condition devra être effectuée. L'utilisation d'une seule courbe de calibration fausserait les concentrations mesurées des échantillons avec métaux à $\text{pH} 4.5$. Pour ces quatre composés, les différences significatives démontrent que leur étalon interne respectif réagit différemment dans de telles conditions. Pour ce qui est du SMX, l'analyse semble être efficace malgré la baisse significative de signal illustré à la **Figure 2.8** car les deux RR sont statistiquement identiques. Comme les écart-types sur les valeurs dans les nouvelles conditions choisies sont du même ordre que pour l'eau brute et que le protocole analytique a été validé pour l'analyse de cette dernière, aucun autre

test supplémentaire n'a été effectué et la méthode a été utilisée tel quel, avec une courbe de calibration par condition.

2.4. Revue du protocole standardisé 309 de l'OCDE

Dans les paragraphes suivant, les composantes importantes du protocole de l'OECD qui a été choisi dans le cadre des expériences de biodégradation seront discutées. Des explications justifiant le protocole expérimental seront fournies.

2.4.1. Applicabilité

Le protocole 309 s'applique aux composés non-volatils, soit ceux ayant des constantes de Henry inférieures à 10^{-5} atm m³ mol⁻¹. C'est le cas des 9 composés à l'étude qui ont tous des valeurs comprises entre 10^{-9} et 10^{-13} (**Table III-1**).

Les concentrations utilisées pour les mesures de cinétique doivent être significativement inférieures aux solubilités des composés dans l'eau, car les valeurs de solubilité théoriques sont généralement beaucoup plus élevées que celles dans un milieu naturel comme une eau de rivière ou un effluent d'un décanteur primaire d'eau usée qui sont beaucoup plus complexes. La concentration ajoutée prévue de 400 µg L⁻¹ pour les 9 micropolluants à l'étude est largement inférieure aux solubilités des composés qui sont plutôt de l'ordre du mg L⁻¹ (**Table III-1**).

Ce protocole permet de simuler la dégradation dans une eau superficielle exempte de particules grossières, comme c'est le cas avec l'eau de rivière en zone urbaine filtrée 0.45 µm. Elle peut aussi le faire dans des eaux troubles ayant des sédiments en suspension, comme c'est le cas avec l'effluent du décanteur primaire.

2.4.2. Composé à l'essai

Une étude bibliographique au préalable doit être effectuée pour connaître sous quelle forme se trouvera les analytes une fois dans le milieu. Aux pressions de vapeur/constante de Henry et à la solubilité dans l'eau mentionnées plus tôt s'ajoutent la solubilité dans le solvant organique utilisé pour ajouter le composé (en l'occurrence le méthanol), la constante de dissociation pour déterminer si le composé sera sous forme neutre, protonée ou déprotonée à pH naturel, et sa stabilité chimique dans l'eau (hydrolyse) et à la lumière du jour (photolyse). Toute l'information pertinente est présentée dans : **Table III-1**, **Tableau II-9** et **Tableau B-8**. Les composés sont tous très

solubles dans le MeOH et comme ce solvant est miscible dans l'eau, l'homogénéité du mélange sera facilement atteinte une fois le composé ajouté et agité dans le milieu à l'étude.

Le tableau ci-dessous présente sous quelles formes les composés seront dans les différents milieux à l'étude en fonction de leur pK_a . Initialement, toutes les eaux testées ont un pH situé entre 7.20 et 7.52, sauf dans les systèmes qui ont été acidifiés volontairement pour augmenter la biodisponibilité des métaux utilisés comme biocide, ces eaux ayant des pH entre 4.42 et 4.49.

Tableau II-9 Effet du pH du système aquatique sur la charge des composés à l'étude en fonction de leur pK_a respectif où N = neutre, (+) = protoné et (-) déprotoné.

pH de l'eau	Composés								
	ATZ	DEA	E2	EE2	NOR	CBZ	CAF	SMX	DCF
7.20-7.52	N	N	N	N	N	N	(+)	(-)	(-)
4.42-4.49	N	N	N	N	N	N	(+)	N	(-)

C'est donc dire que dans toutes les expériences, seule la charge du SMX changera avec l'acidification de l'eau, passant de négative à neutre. La charge du composé influencera son comportement dans l'eau et par le fait-même pourrait influencer sa dégradation.

Les mécanismes de sorption sont très complexes font l'objet d'un projet de maîtrise distinct. Il est difficile de prévoir quelle serait la conséquence d'un changement de pH dans l'eau sur l'adsorption du composé tellement il y a de variables qui entrent en jeu. Par exemple, on pourrait croire que comme le changement de pH après acidification ne change pas la charge de 8 des 9 composés, leurs mécanismes de sorption dans l'eau ne seraient pas influencés. Pourtant, ils le seraient quand même indirectement car la variation du pH de l'eau changerait certainement la biodisponibilité de plusieurs composantes du système qui jouent le rôle de site de sorption, comme la matière organique. Comme il serait trop pénible d'évaluer toutes les conséquences d'une diminution de pH sur la disponibilité des composés ajoutés dans l'eau, une étape supplémentaire a été ajoutée au protocole pour minimiser l'effet de la sorption sur les résultats de dégradation. Cette dernière sera décrite ci-dessous (**section 2.4.3.a.**).

2.4.3. Processus en compétition

2.4.3.a. Sorption et photolyse

Comme certains essais seront effectués dans l'effluent brut d'un décanteur primaire d'eau usée et que ces derniers possèdent un total de solides suspendus non-négligeable (90 à 127 mg L⁻¹, **Table III-3**), les coefficients de partage n-octanol/eau (Log K_{ow}) des composés sont utiles. Selon Ney [142], 5 parmi les 9 composés sont considérés comme hydrophiles et ne seront pas enclins à s'adsorber sur la phase particulaire dans le milieu. Les 4 autres, soient les 3 hormones et le diclofénac, possèdent des coefficients de partage K_{ow} substantiels et pourraient s'adsorber significativement sur les SS en solution (**Table III-1**). Si les mécanismes de sorption sont pour entrer en compétition avec la dégradation après l'ajout des composés dans l'eau, c'est la concentration de ces 4 composés en solution qui devrait diminuer le plus. Comme la cinétique de sorption est généralement un phénomène très rapide dans des conditions comme celles-ci (quelques minutes à quelques heures) [126, 143, 144] et que la vitesse de dégradation devrait être beaucoup plus lente (quelques heures à quelques semaines, **Tableau B-8**), prendre la première mesure T₀ quelques heures après avoir ajouté les composés pourrait être une bonne option. Cela laisserait le temps à la cinétique de sorption de s'équilibrer et le phénomène de dégradation serait ainsi moins perturbé. Dans toutes les expériences, T₀ correspond donc à 5h après l'ajout des composés.

Pour ce qui est de la photolyse, comme les phénomènes sont bien documentés (**Tableau B-8**) et que l'objectif du projet est plutôt de mesurer l'apport naturel de la dégradation chimique (hydrolyse et oxydation) et biologique, elle sera inhibée tout au long de l'expérience de par l'utilisation de bouteille en verre ambré.

2.4.3.b. Toxicité des composés à l'égard des communautés microbiennes

La concentration des analytes doit être suffisamment élevée pour permettre au dispositif analytique de l'analyser adéquatement. Cependant, pour simuler des conditions environnementales réelles adéquates, elle doit aussi être suffisamment basse pour ne pas être toxique envers la flore bactérienne. Il est très difficile de transposer à nos systèmes le peu de données toxicologiques envers les microorganismes aquatiques trouvées dans la littérature car la toxicité d'un composé dépend de beaucoup de facteurs. Ces facteurs sont souvent propres au système à l'étude. Évidemment, le facteur le plus important est la concentration du composé. Celle-ci influencera sa concentration biodisponible, qui

elle dépend du temps d'exposition, de la stabilité du composé et des propriétés du milieu, entre autres. Par exemple, le pH dictera la charge du composé influençant ainsi sa capacité de sorption, qui elle influencera à son tour sa biodisponibilité. L'activité microbienne, de même que l'espèce visée, elles, sont tout aussi importantes. Il est logique de croire que plus la flore bactérienne est élevée dans un milieu aquatique, moins elle sera affectée par la présence d'une concentration X en contaminant émergent. Par rapport au temps d'exposition ; dans certains cas, certains effets ne sont détectables qu'à long terme alors que pour d'autres, c'est l'inverse. Beaucoup d'études montrent aussi qu'après un long temps d'exposition, certaines espèces développent une résistance et recommencent à se multiplier. Il arrive souvent que le nombre de bactéries revient à l'état initial mais que la composition bactérienne change. Qu'en est-il de l'ajout soudain de plusieurs contaminants émergents en même temps, comme c'est le cas ici ? Assisterions-nous à un effet synergique, additif ou négatif [145]?

Malheureusement, la littérature ne nous a pas permis de confirmer que la concentration en analytes utilisée de $400 \mu\text{g L}^{-1}$ pourrait être toxique pour les microorganismes dans l'effluent du décanteur. De nombreuses études de toxicité des composés à l'étude ont été effectuées dans des systèmes aqueux environnementaux mais peu d'entre elles répondent à nos questions. Elles se sont plutôt attardées à des espèces planctoniques, des algues et des poissons, sans compter le fait qu'elles sont présentées de plusieurs façons différentes (EC50, LC50, concentration inhibant la croissance à un certain %, etc.). Les concentrations rapportées de l'ordre du $\mu\text{g L}^{-1}$ au mg L^{-1} ne sont pas utiles.

Néanmoins, quelques valeurs nous ont permis d'avoir une idée de l'ampleur de la toxicité des composés à l'étude envers la flore bactérienne. Il a été démontré qu'en milieu minéral, l'atrazine causait peu d'effets toxiques sur la croissance de *pseudomonas sp.* en culture à des concentrations dépassant même son seul de solubilité dans l'eau ($\approx 30 \text{ mg L}^{-1}$) [146]. On peut extrapoler le résultat à DEA, qui est reconnu comme étant moins toxique que son précurseur [147]. À l'aide de bioessais, [148] ont évalué la toxicité aiguë de carbamazépine et diclofénac. Ils ont rapporté que 81 mg L^{-1} et 11.5 mg L^{-1} de ces derniers respectivement étaient nécessaires pour inhiber 50 % de la luminescence de l'espèce bactérienne *Vibrio Fischeri* après 30 min d'incubation à 15°C . La concentration minimale de SMX inhibant 50% de la bactérie gram négative *Pseudomonas putida* a été mesurée à 256 mg L^{-1} [149].

Tous ces résultats suggèrent que les $400 \mu\text{g L}^{-1}$ des 9 composés utilisés n'auraient pas d'effets délétères notables sur la flore bactérienne d'une eau aussi chargée que celle de l'effluent du décanteur primaire. Malgré tout, un test préliminaire y a été effectué pour mesurer l'effet du SMX sur la biodégradation des 8 autres composés, ce dernier étant l'antibiotique et potentiellement le plus toxique. Les conditions expérimentales étaient les mêmes que pour les expériences de cinétique. Deux séries d'échantillons ont été préparés et tous les composés ont été quantifiés dans le temps. Les résultats des composés s'étant dégradés sont présentés sous forme de graphique, ci-dessous.

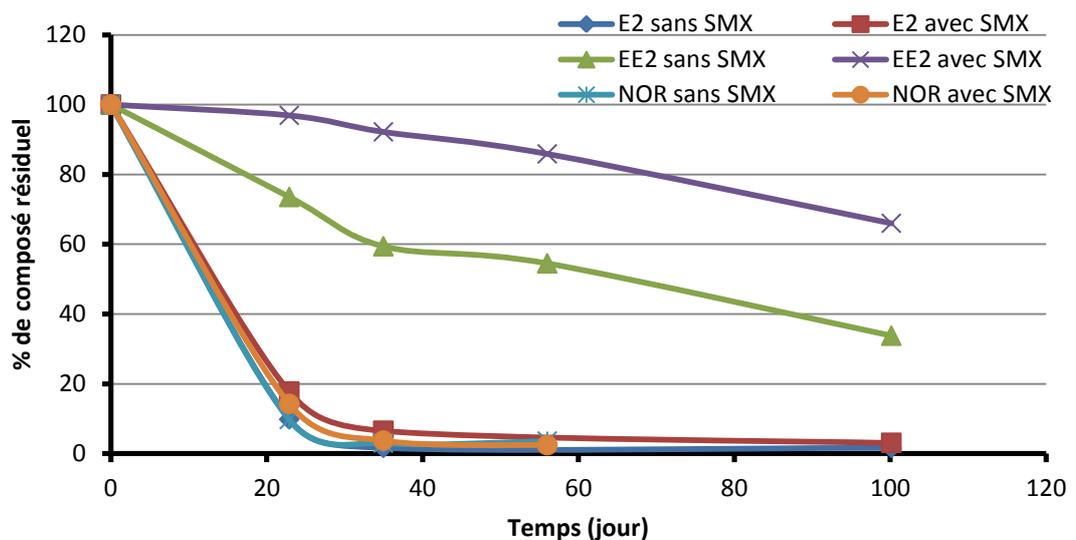


Figure 2.10 Évolution de la concentration de E2, EE2 et NOR dans l'effluent d'un décanteur primaire dans le temps avec et sans la présence de $400 \mu\text{g L}^{-1}$ de SMX. Les barres d'erreurs n'ont pas été incluses pour faciliter l'interprétation des résultats.

La présence de SMX ne semble pas avoir affectée la flore bactérienne dans l'effluent du décanteur primaire pour E2 et NOR car à prime abord, leurs dégradations ne sont pas différentes avec ou sans SMX (**Figure 2.10**). Cependant, il est clair que la présence de l'antibiotique a influencé la vitesse de dégradation de l'EE2, qui est plus rapide sans la présence de SMX. Les résultats suggèrent donc que SMX pourrait être toxique à la concentration utilisée pour les expériences chez certains composés. Pour cette raison, il a été établi pour les expériences #III et #IV (biodégradation dans l'effluent du décanteur primaire) de doubler le nombre de séries et d'évaluer la dégradation de SMX individuellement. De plus, on pourrait rajouter que rien ne nous prouve que les patrons de dégradation de E2 et NOR entre la première et la vingtième journée sont identiques avec et sans ajout d'antibiotique.

2.4.4. Critères de qualité

Comme dans toute analyse, la méthode analytique utilisée doit être approuvée par divers tests qui confirment qu'elle est appropriée pour atteindre les objectifs de la recherche.

2.4.4.a. Pourcentage de récupération

Le pourcentage de récupération d'une méthode représente la concentration mesurée par rapport à la concentration ajoutée dans l'échantillon et permet de savoir s'il y a des pertes de produits durant toutes les étapes de préparation et d'analyse menant au résultat. Il sert aussi d'indicateur à la présence potentielle d'interférences dans l'analyse. Pour des analyses spécifiques ne mesurant pas de produits marqués mais plutôt un fragment propre au composé, un taux de récupération acceptable se trouve habituellement entre 70 et 110%. Par définition, la quantité fortifiée doit se trouver dans la zone quantifiable de la méthode, et doit correspondre à une valeur entre 50 et 100% de la concentration réelle (ou étudiée selon le contexte, comme ici) de la substance [150]. C'est pourquoi le paramètre a été calculé en dopant la matrice la plus sale, soit l'effluent du décanteur primaire d'eau usée, de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ en analytes. Les résultats sont acceptables (**Tableau II-10**) et sont discutés de nouveau à la **section 3.2.3.** du **Chapitre 3.**

Tableau II-10 Pourcentage de récupération de la méthode pour l'effluent du décanteur d'eau usée brute (expériences #III-IV) pour une concentration ajoutée de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Composé	Concentration trouvée ($\mu\text{g L}^{-1}$)	% Biais	% vs concentration ajoutée
ATZ	198.4	-0.8	99.2
DEA	168.2	-15.9	84.1
E2	163.8	-18.1	81.9
EE2	208.1	4.0	104.0
NOR	166.9	-16.5	83.5
CBZ	171.5	-14.2	85.8
CAF	228.0	14.0	114.0
SMX	250.6	25.3	125.3
DCF	206.4	3.2	103.2

2.4.4.b. Réplicabilité

La réplicabilité de la méthode, soit la variation des résultats de plusieurs analyses successives sur un même échantillon et dans les mêmes conditions, doit aussi être vérifiée par 5 analyses identiques pour tous les composés à l'essai dans les matrices à l'étude. Encore une fois, le test a été effectué sur la matrice la plus sale testée, l'effluent du décanteur primaire d'eau usée (**Tableau II-11**). Il existe plusieurs façons de calculer ce paramètre. C'est l'écart-type relatif qui a été utilisé dans le cadre du projet pour le test. Le seuil d'acceptation du paramètre a été fixé à 15%.

Tableau II-11 Résultats du test de réplicabilité de la méthode sur l'effluent du décanteur d'eau usée.

Composé	Concentration moyenne ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Écart-type ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Écart-type relatif (%)
ATZ	198.4	7.6	3.8
DEA	164.1	11.2	6.8
E2	204.8	15.7	7.7
EE2	201.2	20.5	10.2
NOR	192.7	27.0	14.0
CBZ	210.3	18.7	8.9
CAF	192.4	30.5	15.8
SMX	173.3	28.3	16.3
DCF	192.7	39.8	20.7

On peut observer que 3 des 9 composés ne respectent pas le seuil d'acceptation établi de $\leq 15.0\%$, soit CAF, SMX et DCF. Ce n'est pas catastrophique car la valeur la plus élevée n'est que de 20.7 % (DCF) et tel que le protocole de validation de méthode du MDDEFP l'indique [150], il est possible d'effectuer un test de rejet si certaines valeurs d'une série semblent aberrantes, même pour un test de réplicabilité. Aucune donnée n'a été exclue ici pour illustrer que même sans exclusion de données, les résultats sont acceptables. Nous avons établi des procédures d'exclusions précises qui ont été utilisées chaque fois que l'écart-type relatif dépassait le seuil d'acceptation dans toutes les analyses effectuées. Elles sont décrites en détails plus loin (**section 2.4.6.**). Nous voulions seulement démontrer ici que la méthode est réplicable, d'autant plus que l'objectif du projet n'est pas de développer une méthode analytique robuste.

Malgré tout, il est important de mentionner que DCF s'est avéré être un composé très difficile à quantifier, démontrant beaucoup de variabilité intra-analyse et inter-jour tout au long du projet. Comme les tests préliminaires qui ont été effectués pour diminuer ces

variabilités n'ont pas amélioré la situation (**section 2.2.3.**), il a été décidé que 5 puits par échantillons (n=5) seraient toujours analysés pour la méthode 4 (SMX et DCF) pour tenter de diminuer ce problème.

2.4.4.c. Estimation des limites de détection et de quantification

Les limites de détection et de quantification doivent aussi être estimées pour s'assurer que la quantification des analytes soit la plus exacte possible tout au long de leur dégradation. Par définition, la LOD représente la concentration minimale que la méthode peut détecter et la LOQ représente la concentration minimale qui peut être quantifiée avec certitude. Comme c'est une diminution de concentration qui sera observée dans le temps et qu'il est préférable que la concentration d'un produit ait diminuée d'au moins 50% par rapport à C_0 pour calculer les paramètres de cinétique que sont k et $t_{1/2}$, il faut s'assurer que les LOQ et LOD soit suffisamment basses par rapport aux concentrations ajoutées. C'est donc dire que pour une concentration ajoutée de $400 \mu\text{g L}^{-1}$, la LOQ devra au maximum de $200 \mu\text{g L}^{-1}$. Un seuil arbitraire de $150 \mu\text{g L}^{-1}$ a été fixé pour effectuer le plus possible de quantifications dans le temps, car les analytes se dégradent tous à des vitesses différentes.

Il existe deux méthodes de calcul des LOD et LOQ ; la méthode statistique, impliquant une approche statistique sur des mesures de blancs et d'une courbe d'étalonnage, et une méthode plus classique, basée sur une mesure de réplicas de plus en plus dilués jusqu'à ce que l'interprétation du pic du composé devienne impossible (tout en comparant les signaux avec ceux des blancs, la matrice à l'étude brute). C'est l'approche classique qui a été utilisée dans cette étude. Cette dernière est moins fiable et ne permet que d'estimer les deux paramètres, ce qui est cependant suffisant dans le contexte présent. La limite de détection d'un composé a donc été déterminée en choisissant la concentration pour laquelle le ratio signal sur bruit (S/N) de la plus faible transition était de 3:1 sur le pic de désorption de l'analyte en question (abondance relative en fonction du temps). Même si dans les expériences de cinétique, les analytes ont été quantifiés avec leur transition donnant le signal le plus élevé, les LOD et LOQ ont été estimées avec la transition donnant le signal le plus faible pour éviter tout problème potentiel de répliquabilité et répétabilité durant les expériences. Une simple règle de trois était utilisée pour trouver la concentration quand le ratio (S/N) calculé pour une solution de concentration donnée se trouvait autour de la valeur (S/N) minimale de 3:1. L'exemple de l'atrazine dans l'eau brute filtrée $0.45 \mu\text{m}$ (exp #I-II) permet de mieux comprendre comment les S/N,

LOD et LOQ ont été calculés (**Figure 2.11- Figure 2.13**). La proportionnalité entre le S/N de l'analyte et sa concentration a été confirmée en calculant les S/N de quelques concentrations au-delà des LOD. La limite de quantification était par la suite estimée en multipliant la LOD par 3.3 [150] (**Tableau II-12**).

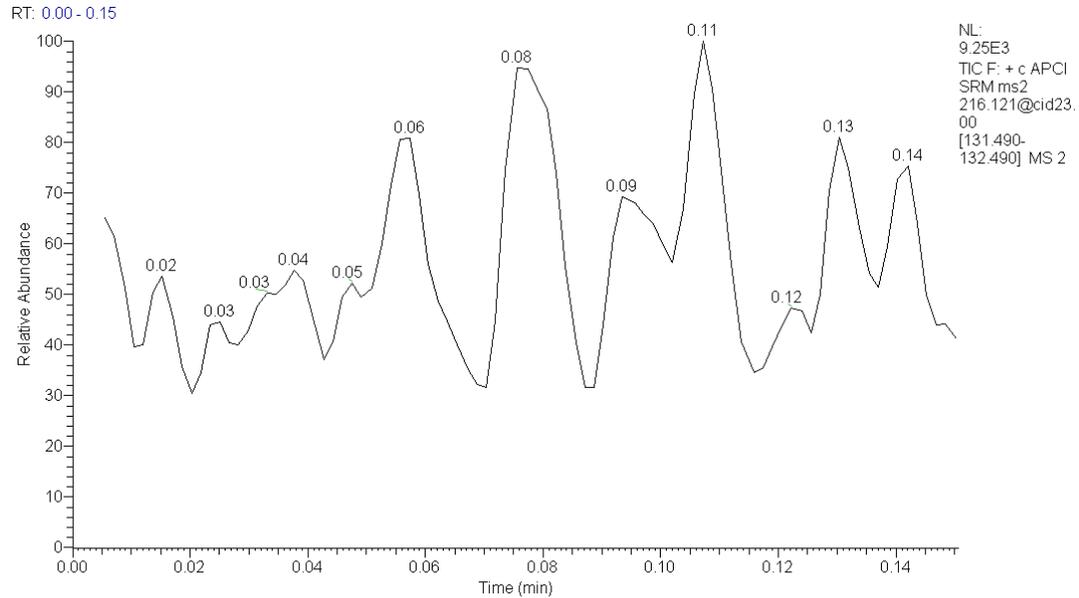


Figure 2.11 Profil de désorption de ATZ pour l'ion fragment de $m/z = 132$ (m/z de l'ion parent $[M+H]^+ = 216$) dans un blanc (eau brute filtrée $0.45 \mu\text{m}$), où NL est l'intensité normalisée du pic le plus élevé (u.a.).

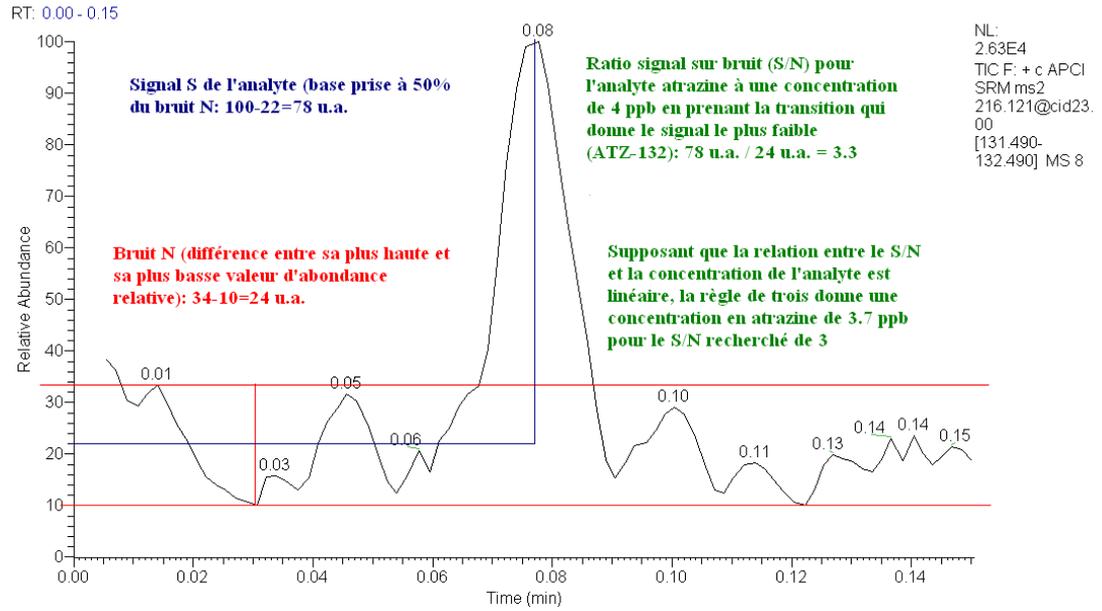


Figure 2.12 Pic de désorption de ATZ pour l'ion fragment de $m/z = 132$ (m/z de l'ion parent $[M+H]^+ = 216$) dans une eau brute filtrée $0.45 \mu\text{m}$ dopée en analytes à $4 \mu\text{g L}^{-1}$, où NL est l'intensité normalisée du pic le plus élevé (u.a.).

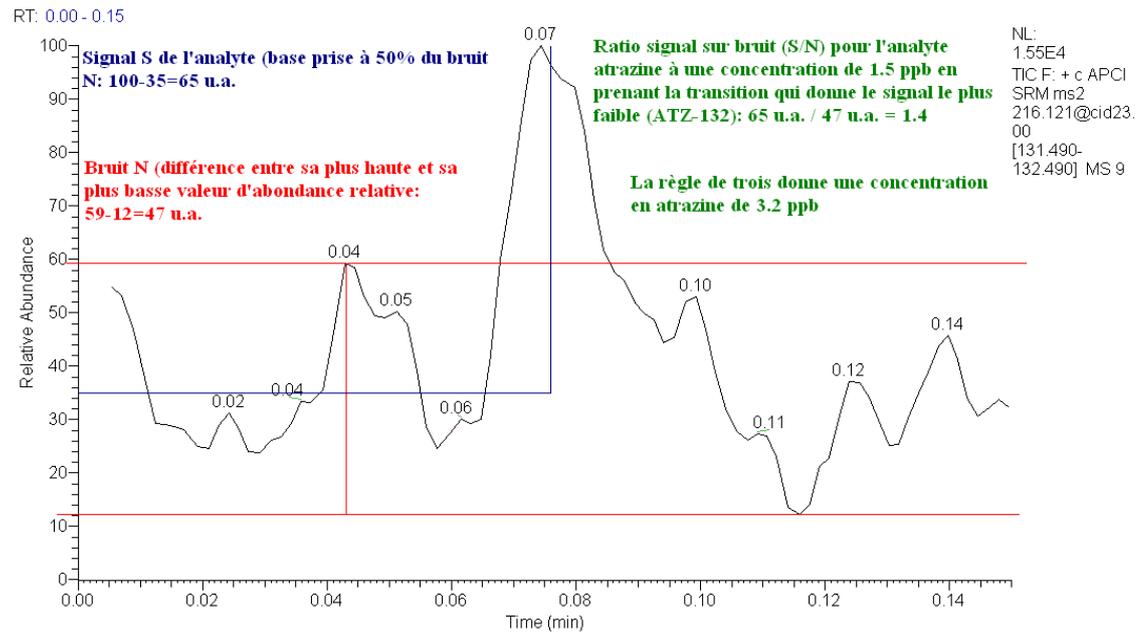


Figure 2.13 Pic de désorption de ATZ pour l'ion fragment de $m/z = 132$ (m/z de l'ion parent $[M+H]^+ = 216$) dans une eau brute filtrée $0.45 \mu\text{m}$ dopée en analytes à $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$, où NL est l'intensité normalisée du pic le plus élevé (u.a.).

Tableau II-12 Limites de détection et de quantification (estimations) de la méthode pour neufs composés dans les eaux à l'étude et comparaison avec l'eau distillée. Le chiffre après les noms représente le rapport m/z ($[M+H]^+$) de l'ion fragment choisi.

Composé- Transition choisie	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
	Eau distillée		expériences #I-II (eau de surface filtrée 0.45 μm)		expériences #III-IV (effluent du décanteur primaire)	
ATZ-132	3.7	12.2	3.7	12.2	4.0	13.2
DEA-104	1.0	3.3	1.0	3.3	3.0	9.9
E2-133	0.7	2.3	0.7	2.3	5.0	16.5
EE2-133	0.3	1.1	0.7	2.3	2.5	8.3
NOR-91	0.3	0.9	0.3	0.9	3.0	9.9
CAF-110	1.9	6.3	3.1	10.2	10.0	33.0
CBZ-192	0.2	0.5	0.2	0.5	0.4	1.3
SMX-108	1.0	3.3	2.2	7.3	6.7	22.1
DCF-219	2.5	8.3	1.3	4.3	7.2	23.8

2.4.5. Échantillonnage, échantillons et conditions expérimentales

2.4.5.a. Procédé semi-continu et substance de référence

Certains composés ne commencent à se dégrader qu'après plusieurs semaines d'exposition dans un milieu. Cette période d'adaptation de la flore bactérienne au composé ajouté s'appelle phase de latence. [116].

Dans le cas où la phase de latence dépasse 60 jours, il est sous-entendu que le milieu testé s'est appauvri avec le temps et qu'un renouvellement de celui-ci est nécessaire pour mener à terme l'expérience de biodégradation. L'eau ne correspond plus assez aux conditions réelles L'OECD stipule que pour qu'un essai soit prolongé après 60 jours, il faut que la phase de dégradation ait commencée durant cette période jusqu'à un maximum de 90 jours [107]. Ce critère ne s'applique cependant pas aux expériences #I-II de même que pour les contrôles des expériences #III-IV (bouteilles #CIII-CIV, ces cinétiques ayant été effectuées dans des échantillons considérés comme biologiquement inhibés. Comme la densité bactérienne de l'effluent du décanteur primaire d'eau usée brute (exp #III-IV) est élevée (**Tableau II-13**), nous avons supposé que dans les cas où le composé se dégraderait, le phénomène commencerait à l'intérieur de la période permise de 90 jours, ce qui a été confirmé par les résultats des cinétiques (**Table III-4**).

De plus, pour vérifier si le système en question renferme une flore bactérienne active, une substance de référence doit être utilisée. Cette substance de référence se dégrade facilement pour qu'il soit possible d'en venir à des conclusions rapidement. Cependant, aucune substance de référence n'a pu être utilisée dans le cadre de l'expérience car la méthode analytique utilisée était déjà validée et spécifique aux composés à l'étude.

2.4.5.b. Transport et stockage de l'eau

Pour pouvoir transposer les futurs résultats sur d'autres eaux, une fois échantillonnée, l'eau utilisée ne doit pas subir de perturbations. Elle doit être la plus représentative possible du milieu étudié. Tous les récipients et bouteilles utilisés pour l'échantillonnage ont été préalablement rincés à l'eau, lavés à l'eau savonneuse, rincés à l'eau déionisée et autoclavés (l'autoclave n'était pas obligatoire mais suggérée). Aucun solvant organique n'a été utilisé pour empêcher la contamination des bouteilles aux DOC. Dans le cas où les expériences de cinétiques n'ont pu être lancées 24 heures après l'échantillonnage, l'eau devait être stockée à 4°C pour une période maximale de 1 mois, ce qui a été respecté car toutes les expériences de cinétique ont été lancées au plus tard une semaine après l'échantillonnage.

2.4.5.c. Solutions mères et ajout du composé dans le milieu à l'étude

Comme les milieux à l'étude sont des systèmes aqueux, il aurait été recommandé de préparer les solutions mixtes à ajouter dans les systèmes avec de l'eau déionisée, pour que l'ajout des composés perturbent le moins possible le système et sa flore bactérienne. Comme il était difficile de procéder comme suit parce que certains composés étaient susceptibles de se dégrader dans l'eau à moyen terme, le méthanol a été utilisé. C'est un bon milieu de stockage à long terme pour les solutions mères de composés et il est miscible dans l'eau. Le protocole standardisé stipule cependant que la quantité de solvant ajouté au système expérimental ne devrait pas dépasser 1% pour ne pas perturber le système et peut-être nuire à la flore bactérienne. Pour des raisons de logistiques et parce que cela simplifiait beaucoup le protocole, la quantité de solvant ajouté a atteint 2% dans certains cas. Cependant, aucune étude n'a démontré que ce pourcentage nuisait à la population microbienne d'un milieu, la plus proche stipulant que c'est à partir de 4% que des effets délétères significatifs seraient observés chez certaines espèces en milieu de culture [151].

2.4.5.d. Volume des systèmes à l'étude

Toutes les conditions évaluées dans les expériences de cinétique ont été effectuées en duplicatas. Le volume d'eau à tester recommandé est d'au moins 100 ml car plus le volume est petit, plus la longueur de la phase de latence risque d'être influencée. De plus, pour une eau aussi complexe que celle d'un effluent de décanteur primaire d'eau usée, plus le volume est petit, plus le milieu risque d'être hétérogène et plus cela induira des variations au sein des cinétiques de dégradation. Pour des raisons de logistiques, les volumes utilisés dans les expériences étaient de 25 ml. Même si dans de telles conditions, les chances que les variations au sein des duplicatas soient élevées augmentaient, les résultats indiquent que cela n'a pas influencé significativement les dégradations. Des 21 constantes de vitesse moyenne issues de duplicatas dans lesquelles les deux répliques ont subi une dégradation, les écart-types relatifs de 10 paires sont de < 15 % et 6 sont entre 15 et 35%. Seuls 5 des 21 duplicatas sont problématiques, avec des écarts variant de 53 à 77% (**Table III-4**). Cela est très respectable pour des systèmes aussi complexes et peu volumineux. Malgré tout, il aurait été préférable d'utiliser des systèmes plus gros, tel que suggéré dans la méthode standardisée. Les quelques duplicatas dans les expériences de dégradation chimique (exp #I-II) et les contrôles des expériences de biodégradation (exp #III-IV) pour lesquels un des deux duplicatas a subi une dégradation ont été exclus car tel que mentionné plus tôt, ces résultats suggéraient plutôt qu'il y a eu contamination microbiologique quelque part dans la cinétique.

2.4.5.e. Température d'incubation

L'incubation doit avoir lieu dans l'obscurité ou sous une lumière diffuse pour inhiber la photolyse, à une température réglée $\pm 2^{\circ}\text{C}$ choisie adéquatement selon les objectifs de l'expérience. Pour toutes les expériences, les bouteilles ont été stockées dans des chambres à température contrôlée. Les températures choisies pour les expériences #I-II, soit 4 et 22°C ont été choisies arbitrairement (mais sont restées constantes tout au long de la cinétique) pour reproduire les variations saisonnières typiques au Québec. Les températures choisies pour les expériences #III-IV (dans l'effluent du décanteur primaire), soit 4 et 21.5 °C, ont été choisies en faisant la moyenne des 3 températures mensuelles les plus froides (Février, Mars & Avril) et les plus chaudes (Juillet, Août & Septembre) enregistrées par le décanteur primaire pilote. Il s'agit d'un décanteur traitant l'eau d'un réseau d'égouts dans la région de Québec.

2.4.5.f. Agitation durant l'incubation

Le protocole stipule qu'une agitation doit être continue dans les bouteilles pour maintenir les particules en suspension et l'aérobiose, ce qui n'a pas été fait. Premièrement, comme les expériences #I-II ont été effectuées dans de l'eau dépourvue de matière en suspension (filtrée 0.45 μm pour mesurer la dégradation chimique), l'agitation n'était pas nécessaire. Dans l'expérience #I, en laissant environ $\frac{1}{4}$ de la bouteille vide, l'aérobiose a été maintenue par circulation d'air lorsque les bouchons étaient ouverts pour prélèvement. Pour l'expérience #II, les bouteilles ont été bullées 60 minutes par jour tout au long de l'expérience. Pour les expériences #III-IV, il a été choisi de ne pas agiter et ni de buller pour reproduire le plus possible les conditions d'un décanteur primaire d'eau usée. Dans celui-ci, l'eau n'est pas en mouvement (pour que les particules décantent) et le système est fermé.

2.4.5.g. Prélèvement des aliquotes et fréquence de quantification

Deux façons de prélever les aliquotes des systèmes à l'étude étaient suggérées. La première méthode est destructive : après la collecte de l'aliquote dans la bouteille, la bouteille est jetée. C'est donc dire qu'une bouteille par réplica serait utilisée par prélèvement. Cela a l'avantage d'éviter toute recontamination dans le milieu à l'étude car la bouteille n'est ouverte qu'une fois, au moment du prélèvement. Cependant, un nombre substantiel de bouteilles devrait être utilisé. De plus, dans un système aussi complexe que celui de l'effluent d'un décanteur primaire d'eau usée, il existera toujours une hétérogénéité dans le contenu des bouteilles, même si elles ont toutes été préparées à partir d'une même solution mère. Cela induirait probablement des différences dans les cinétiques inter-bouteilles. Dans ce contexte, il serait donc inapproprié de compiler des données issues de différentes bouteilles pour définir un seul phénomène.

Le deuxième moyen était tout simplement de prélever l'aliquote nécessaire à l'analyse dans la même bouteille, à chaque point de la cinétique. Comme les deux désavantages de la première méthode n'en seraient plus avec celle-ci, c'est cette façon de procéder qui a été choisie. Aucune précaution supplémentaire n'a été prise pour minimiser la possibilité d'une recontamination à chaque fois qu'une bouteille a été ouverte, et c'est peut-être pourquoi dans certains cas, un des duplicata a subi une dégradation attribuée vraisemblablement à une contamination microbiologique.

Deux bouteilles sont nécessaires pour le calcul du bilan massique, c.-à-d. la différence entre le carbone ajouté par les composés à l'essai initialement par rapport au carbone retrouvé à la fin de l'expérience sous toutes ses formes (dissous, sorbé, volatilisé). Même si la connaissance de la répartition du carbone au fil du temps dans un milieu est intéressante, ce n'était pas le but de l'expérience et c'est pourquoi cela n'a pas été fait. De toute façon, la réalisation de cette étape requérait des techniques d'analyses non-spécifiques qui n'ont pas été employées dans le cadre de cette expérience (par exemple, un dispositif externe adsorbant le $^{14}\text{CO}_2$ dégagé par le système).

Des témoins de contrôle dans lesquels la flore bactérienne a été désinfectée ont été utilisés pour toutes les expériences. Tout duplicata de bouteilles réelles était accompagné d'un duplicata de contrôle pour vérifier l'existence de processus de dégradation abiotique (hydrolyse et oxydation).

Il n'a pas été possible de fixer une fréquence car la vitesse à laquelle la dégradation se fait est propre au système, aux conditions à l'étude et aux composés. Il est préférable d'avoir le plus de point possible dans la phase de dégradation pour permettre une estimation juste des différents paramètres de cinétique. La fréquence n'était donc pas prédéterminée pour les expériences mais de façon générale, le temps entre les points de mesures rallongeait avec la longueur de l'expérience.

2.4.5.h. Caractérisation des milieux à l'étude

La méthode standardisée sur laquelle nous nous sommes inspirés stipule que le pH et la concentration d'oxygène dissous dans l'eau devraient être mesurés régulièrement pour faciliter l'interprétation des résultats, ce qui est normal car c'est un protocole conçu pour les systèmes en aérobie. Comme le but du projet de maîtrise concernait plutôt l'effluent du décanteur primaire, des systèmes connus comme étant pauvres en oxygène, il a été assumé que dans les circonstances, il ne serait pas pertinent d'effectuer ces mesures. De plus, les deux méthodes standardisées communes pour mesurer le taux d'oxygène dissous auraient posé problème; la méthode Winkler est un titrage et est donc destructive alors que la méthode par sonde à oxygène nécessite des volumes trop importants d'eau, sans compter que son utilisation nécessite l'agitation du système, ce qui l'aurait perturbé [152]. De plus, comme par définition, le carbone organique dissous (DOC) représente toute forme de carbone dans une eau passant à travers un filtre de

pore de 0.45 μm [153], nous avons assumé que le carbone organique total (TOC) y était égal pour les eaux des expériences I-II.

Étonnamment, le protocole standardisé considère que la mesure de nombre de bactéries dans le milieu est facultative, ce qui est étrange puisque par définition, la biodégradation est la transformation du composé par les microorganismes du milieu. Elle a tout de même été effectuée dans le cadre de cette étude, au moment du prélèvement initial des cinétiques, sauf dans le cas des eaux de surfaces (exp #I et #II).

tel qu'expliqué plus tôt (section 2.3.2.c.). Pour la deuxième expérience de biodégradation dans l'effluent du décanteur primaire d'eau usée brute (exp #IV), un comptage de bactérie a aussi été effectué 38 jours après le début de l'expérience pour vérifier l'évolution de la flore microbienne dans les contrôles et les échantillons réels (Tableau II-13). Les résultats des caractérisations sont présentés dans le manuscrit (Chapitre 3, Table III-3) et une interprétation plus exhaustive de la composition bactérienne de l'effluent du décanteur primaire d'eau usée est effectuée ci-dessous.

Tableau II-13 Caractéristiques biologiques de l'eau de l'expérience #IV à T_0 et à $T = 38$ jours

Expérience et durée du test		Caractéristiques de l'eau				
		T_0		$T = 38$ jours		
Effluent du décanteur primaire d'eau usée - 72 jours	Code	pH	Bactéries viables (nb L^{-1})	pH	Bactéries viables (nb L^{-1})	Bactéries totales (nb L^{-1})
4 °C	IV4	7.52	n.a	7.2	2.99×10^9	1.01×10^{10}
4 °C avec biocides ⁱ	CIV4	4.42 ⁱⁱ	n.a	6.08	1.59×10^9	3.19×10^9
21.5 °C	IV21	7.41	2.09×10^{10}	7.32	6.94×10^9	1.13×10^{10}
21.5 °C avec biocides ⁱ	CIV21	4.49 ⁱⁱ	2.37×10^7	6.54	8.58×10^8	1.82×10^9

ⁱ $[\text{Cu}^{2+}] 9.5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{Ag}^+] 16 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{SMX}] 10 \text{ mg L}^{-1}$

ⁱⁱ acidifié avec de l'acide formique

Le nombre de bactéries viables dans l'échantillon de contrôle (CIV21) est de l'ordre du bas 10^7 . Cela peut sembler élevé et il serait facile d'émettre l'hypothèse que l'inhibition biologique n'a pas été efficace. Pourtant, les résultats suggèrent le contraire. Pour la plupart des composés qui se sont dégradés dans les échantillons réels, il n'y a pas eu de dégradation dans les contrôles correspondant et dans ceux où il y en a eu, la dégradation était très lente (Table III-4). Un autre test a permis de déterminer que ce nombre de

bactéries était de l'ordre de celui d'une eau de surface brute. De plus, la technicienne ayant effectué le compte de bactérie a déclaré que les bactéries ayant survécu à l'ajout de biocides dans les échantillons de contrôle étaient en très mauvais état par rapport à celles dans les échantillons réels qui étaient en pleine forme. Il est vrai qu'on ne peut pas parler de stérilisation, mais la désinfection a tout de même été efficace.

La caractérisation de l'effluent du décanteur primaire d'eau usée 38 jours après le début de la cinétique démontre que la flore bactérienne a diminué d'environ 65 % à hautes températures par rapport à la valeur initiale (**Tableau II-13**) et que ce phénomène était plus important à faible température, ce qui est normal car la multiplication bactérienne prévue après l'ajout de composé à T_0 s'est probablement faite moins rapidement à 4 °C. Pour ce qui est des échantillons de contrôle, le pouvoir tampon de l'eau n'a pas été suffisant pour maintenir le pH autour de 4.5. Comme les eaux ont été acidifiées à cette valeur pour maintenir les métaux solubles, l'augmentation du pH et du nombre de bactéries suggère que le sulfate de cuivre et le nitrate d'argent se sont précipités progressivement après leur ajout dans l'eau. Jumelé à une probable sorption des métaux sur les matières en suspensions dans les systèmes, la biodisponibilité des biocides envers les bactéries a dû progressivement diminuer à son tour, favorisant la croissance de souches bactériennes résistantes. Des mesures plus fréquentes de pH auraient définitivement permis de tamponner les systèmes afin d'éviter cette situation, qui est somme toute acceptable compte tenu des résultats de biodégradation. Après tout, l'inhibition bactérienne ne manifeste pas seulement par la mort de bactéries. En altérant leur structure cellulaire, les métaux ont tout de même contribué à l'affaiblissement de la communauté bactérienne et empêché sa croissance. L'augmentation de la cellule bactérienne et de la membrane cytoplasmique de même que des anomalies parmi le contenu cytoplasmique et les couches externes figurent parmi les conséquences observées après l'ajout de nitrate d'argent [154]. Il est donc juste de croire que la bactérie, en pareille situation, n'aurait pas pu dégrader les composés à l'étude, et c'est pourquoi la dégradation biologique n'a pas été observée dans les contrôles des expériences dans l'effluent du décanteur d'eau usée (**Table III-4**).

2.4.6. Analyse chimique, traitement des données, interprétation et rapport

Les résultats ont été rapportés en termes de concentration résiduelle et de pourcentage restant par rapport à la concentration initiale en fonction du temps, tel que le recommandait la procédure standardisée.

Comme le stipule cette dernière, des règles ont été pré-établies avant le début des tests pour le traitement des données. Pour un même réplica, il a été fixé qu'un maximum d'un point pour une série de $n=3$ et de 2 points pour une série de $n=5$ pouvaient être exclus quand un de ces deux critères était atteint : quand l'écart-type relatif (RSD) dépasse 15% pour une série de points, un point peut être exclu s'il améliore cet RSD, ou quand le test d'exclusion de données dit « Test Q » permet de le faire à 95% de certitude. Cette procédure a été systématiquement utilisée pour toutes les quantifications effectuées lors des expériences de cinétique (#I, II, III et IV). Les résultats sous la forme de graphique de la concentration résiduelle en % en fonction du temps sont présentés par bouteille et aussi par moyenne de duplicata (par conditions). La durée de la phase de latence, la constante de vitesse de dégradation k et le temps de demi-vie $t_{1/2}$ sont calculés par bouteille et non par duplicata. Les constantes k et $t_{1/2}$ sont calculés avec la portion de dégradation seulement. La durée de la phase de latence de dégradation est estimée comme suit : elle représente tous les points successifs statistiquement identiques jusqu'à ce que la différence entre les points T_n et T_0 soit de plus de 10% inclusivement. La phase de dégradation est représentée par les points suivants jusqu'à ce que la concentration se stabilise (s'il y a lieu) et cette dernière phase est la phase post-dégradation.

2.4.6.a. Confirmation de l'ordre un

Il est suggéré de tester deux concentrations de composé à l'essai pour s'assurer que les cinétiques de dégradation obéissent à celle d'un ordre un. Dans ce cas, la concentration du composé à l'essai n'influencerait pas la constante de vitesse, tel que le stipule les caractéristiques d'une réaction d'ordre un [155]. Comme il existe aussi des moyens mathématiques pour confirmer l'ordre d'un phénomène et que cette approche est moins lourde expérimentalement, c'est cette approche qui a été choisie. Pour ce qui est de l'approche expérimentale, les volumes de solvant et les quantités de produits auraient doublés de même que le temps d'analyse et la quantité de verrerie. Cela n'est pas catastrophique, surtout considérant que l'analyse par LDTD-APCI-MS/MS prend une dizaine de secondes. Cependant, le temps de préparation des échantillons et le nombre de plaques LDTD consommées auraient posés problème.

La première hypothèse émise, avant même de lancer la première cinétique, était que les dégradations prendraient toutes quelques heures ou au maximum, quelques jours. C'est donc dire que tout temps mort compris entre la prise de l'aliquote dans les bouteilles et

le lancement de l'analyse aurait pu influencer et venir fausser la cinétique de dégradation. Ce temps mort est non négligeable car il comprend quand même le temps de préparation des échantillons et des plaques à analyser et correspond à au moins 120 min pour une série d'une seule concentration. Il a donc été jugé qu'il serait trop risqué de doubler ce temps mort en ajoutant une deuxième série à une autre concentration, de peur que les composés se dégradent pendant la préparation des plaques. De plus, comme l'objectif du test n'était pas de mesurer l'efficacité de techniques de conservation d'échantillon mais de mesurer la dégradation des composés et que les techniques de conservation pour ce type d'aliquotes n'étaient pas bien documentées, il a été jugé préférable de quantifier les aliquotes tout de suite après les avoir recueillis.

Le deuxième facteur posant problème était la consommation de plaques LDTD. Il a été estimé que pour une série typique (1 blanc, 5 solutions de calibrations et 8 échantillons), un peu plus de 3 plaques par points de mesure auraient été nécessaires pour les 4 méthodes. Estimons une dizaine de points de mesure par cinétique et on se retrouve avec un minimum de 30 plaques par expérience au total. Ce type de plaque coûtant environ 100 dollars l'unité, il aurait été complètement aberrant d'en utiliser deux fois plus sachant qu'il existe un autre moyen, mathématique celui-là, de confirmer ou d'infirmer que le phénomène obéit à l'ordre un.

Tout portait à croire que les cinétiques étaient d'ordre un (expériences similaires dans la littérature [27, 45, 52, 59, 88, 90, 92, 156], concentration des composés à l'essai & type de milieu à l'étude [155]). Un moyen simple de le confirmer était d'appliquer le modèle d'ordre un aux résultats et de les porter graphiquement. Un phénomène obéissant à l'ordre auquel les résultats y ont été appliqués et portés graphiquement se traduirait par une relation linéaire (ou à tout de moins le plus linéaire possible). Cela a été confirmé par les résultats, tel que mentionné et expliqué en détail dans le (**Chapitre 1**).

2.4.6.b. Points de mesure nécessaires à l'estimation de la constante de vitesse

Selon la procédure, un minimum de 5 points de mesures doit être pris dans la phase de dégradation du composé pour estimer sa constante de vitesse de dégradation avec exactitude. Puisque 9 composés étaient à l'essai ici, le défi était de ne pas rater une ou plusieurs phases de dégradation. Ces dernières pouvaient se déclencher à neuf moments différents, être lentes comme rapides, avec ou sans phase de latence etc., selon les composés. Il est plus facile de mesurer le phénomène de dégradation lorsqu'il est lent,

car plus de points peuvent être pris. Dans le cas où la mesure du phénomène serait ratée pour les raisons citées ci-dessus, il est quand même possible d'estimer la constante de vitesse avec trois points de mesure si c'est justifiable (par exemple si les points sont suffisamment distancés pour démontrer que la relation suit l'ordre utilisé). Des 47 constantes de vitesse calculées, 42 l'ont été avec au moins 3 points. Seules 5 constantes de vitesse ont été calculées avec 2 points (**Table III-4**). Ce sont tous des composés mesurés dans la deuxième cinétique dans l'effluent du décanteur primaire : NOR et CAF à 4°C et E2 et NOR à 21 °C. Ces constantes de vitesses et ces demi-vies sont donc à interpréter avec soin mais elles donnent néanmoins une bonne idée de l'ampleur du phénomène.

3. Dégradation chimique et biologique de neuf contaminants émergents dans les eaux de surfaces et les effluents primaires d'eaux usées municipales

L'élaboration du protocole décrite dans ce chapitre, la réalisation de celui-ci, la collecte et l'interprétation des résultats ainsi que la rédaction de l'article ont toutes été effectuées par son auteur, Guillaume Cormier. Sébastien Sauvé a apporté son soutien à l'élaboration du protocole et à l'interprétation des résultats. Il a aussi aidé à la rédaction de l'article. Benoit Barbeau a collaboré à la rédaction de l'article avant sa soumission pour publication à *Environmental Chemistry* le 23 mai 2014.

Chemical and microbial degradation of nine emerging contaminants in primary settling tank effluents

Guillaume Cormier^a, Benoit Barbeau^b, Sébastien Sauvé^{a*}

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

^bNSERC Industrial Chair on Drinking Water, Department of Civil, Mining and Geological Engineering, École Polytechnique de Montréal, C.P. 6079, Succursale Centre-Ville, Montreal, QC, Canada H3C 3A7

*Corresponding author:

Sébastien Sauvé, Ph.D., Full Professor

Université de Montréal, Pavillon Roger-Gaudry, Chimie
CP 6128 Centre-ville, Montréal, QC, H3C 3J7, Canada

Abstract

A protocol inspired by the 309 simulation test of the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) allowed us to measure the chemical (excluding photolysis) degradation of 9 emerging contaminants in surface waters as well as the chemical and biological degradation potential in the effluents of a municipal wastewater primary settling tank (PST). The data confirmed that a pseudo first order kinetic model provided a good fit. The results suggest that chemical and biological degradation will not significantly contribute to the disappearance of atrazine, desethylatrazine, carbamazepine and diclofenac in the aqueous phase of the tested systems given the reported persistency of more than a year in surface waters and 71 days in PST effluents. Other compounds were more easily degraded and 17 β -estradiol, ethinylestradiol, norethindrone, caffeine and sulfamethoxazole were all amenable to biological degradation in PST effluents as a sample matrix, with measured degradation rate constants k and half-lives ranging from 0.0082-0.59 d⁻¹ and 1.2-85 days respectively. However, since the PSTs in waste water treatment plants (WWTPs) generally have a water residence time of only a few hours, and considering the typical contaminant concentrations in those compartments, it is unlikely that significant disappearance will occur during their relatively rapid passage throughout the PST.

3.1. Introduction

Emerging contaminants, or more correctly, contaminants of emerging concern (CEC) are staples of our lifestyle and are part of most of our routines, as active ingredients in many personal care products like shampoos, cosmetics and drugs as well as in pharmaceutically active compounds, plastics, waterproofing treatments, etc. [157]. Furthermore, some are significantly present in primary industries like pesticides in agriculture or veterinary drugs in aquaculture. Pharmaceuticals and personal care products (PPCP) are released in sewage along with human feces and urine [60]. Since most of them are either poorly or moderately eliminated during conventional waste water treatments [43, 45, 158], they are continuously introduced in aquatic environments through wastewater treatment plants (WWTP) effluents while pesticides are released via agricultural runoffs [11]. Consequently, such target PPCP and pesticides are generally found in those systems as well as drinking waters in the ng L⁻¹ to $\mu\text{g L}^{-1}$ range [19, 20, 32, 41-43, 52, 65, 159-162]. Over the years, evidence has built

up to demonstrate that some of those target contaminants are endocrine disrupting compounds (EDCs) with clear effects on aquatic organisms and wildlife reproduction and with possible implications for human health [163]. Governments and regulatory agencies have increased their interest for the potential impact of ECs and their metabolites. Not only do we need to know at which levels and to whom they are toxic but information regarding their behavior once released in the environment is essential in order to establish environmental guidelines for the use and disposal of the target molecules along with proper treatment of wastewaters.

More information is required on the degradability of these PPCP in order to evaluate the environmental risks related to their persistency once released into surface waters. Is the compound degradable within a reasonable time frame? What kind of processes are responsible for its disappearance, whether abiotic, biotic or both? When will the concentration be reduced to levels of little or no concerns? Such data are also essential to help parameterize environmental fate models that could then be used to better understand their environmental behavior but also help to improve treatment processes.

The objective of this study was to measure the degradation of nine CEC and calculate the contribution of biotic (biodegradation) and abiotic (hydrolysis and oxidation) processes to their disappearance in aquatic systems while minimizing sorption to suspended solids. Among the target CEC, we have chosen to focus on seven PPCP: 17 β -estradiol (E2), 17 α -ethynylestradiol (EE2), norethindrone (NOR), caffeine (CAF), carbamazepine (CBZ), sulfamethoxazole (SMX) and diclofenac (DCF), along with 2 pesticides: atrazine (ATZ) and its main degradation metabolite; desethylatrazine (DEA). Apart from degradation studies in activated sludge [29, 42, 126, 164, 165], few studies have been carried out targeting these CEC in other compartments of WWTP. Even less data are available concerning their fate in aquatic environments [18, 82, 166] and more data are required given that water is probably the best natural transport vector for those compounds. Norethindrone is a synthetic steroid that is less well studied than natural hormones and surprisingly, we found no published values on its degradation. Only photolysis seems to be well documented for the target CEC in aqueous environments [27, 45, 52, 78, 79, 84, 92]. For this reason, photolysis was inhibited in every sample tested. Chemical degradation was assessed in typical river waters while chemical and primary biodegradation was measured in PST wastewater effluents. The main objective was to determine if the degradation of the target compounds was significant during their

passage through a PST commonly used for municipal WW treatment and upon release into the environment.

A protocol inspired from published studies [18, 27, 82, 85] and standardised OECD's 309 –Simulation Biodegradation Test [167] was developed to achieve the objectives. A specific analytical technique developed earlier was used to quantify over time the degradation of the spiked chemicals in water [1]. This method uses a laser diode thermal desorption atmospheric pressure chemical ionization coupled to tandem mass spectrometry (LDTD-APCI-MS/MS). This technique involves a high-throughput sample introduction method reducing total analysis time to less than 15 s per sample (compared to minutes with traditional liquid-chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)). This approach thus allowed us to use an experimental design involving a much larger number of samples than could be feasible using a standard LC-MS/MS approach.

3.2. Materials and Methods

3.2.1. Chemicals, reagent and stock solutions

The characteristics of the nine selected analytes used for this study are listed in **Table III-1** with their molecular structures presented in **Figures 1.3 to 1.11 (see Chapter 1)**. These standards (purity $\geq 97.4\%$) were purchased from Sigma Aldrich (Oakville, ON, Canada).

Table III-1 Studied compounds, physical properties & classification by Ney [142]

Compound	MW ^a (g mol ⁻¹)	pKa	Water Solubility (mg L ⁻¹ at (X°C))		Log K _{ow}		Vapor Pressure (mm Hg at 25°C)		Henry's Law Constant ⁿ (atm m ³ mole ⁻¹ at 25°C)	
				by Ney		by Ney (Hydro-)		by Ney		by Ney
ATZ	215.69	1.7 ^a	34.7 ^c (26)	A	2.61 ⁱ	philic	^l 2.89 x10 ⁻⁷	L	2.36 x10 ⁻⁹	NV
DEA	187.63	1.65 ^b	3200 ^f (22)	H	1.51 ^j	philic	^m 9.33 x10 ⁻⁵	A	1.53 x10 ⁻⁹	NV
E2	272.39	10.33 ^c	3.6 ^g (27)	L	4.01 ⁱ	phobic	^m 1.26 x10 ⁻⁸	L	3.64 x10 ⁻¹¹	NV
EE2	296.41	10.33 ^c	11.3 ^g (27)	A	3.67 ⁱ	phobic	^m 2.67 x10 ⁻⁹	L	7.94 x10 ⁻¹²	NV
NOR	298.43	17.59 ^c	7.04 ^g (25)	L	2.97 ⁱ	≈phobic	^m 7.31 x10 ⁻⁹	L	5.80 x10 ⁻¹⁰	NV
CBZ	236.28	13.9 ^d	17.7 ^c	A	2.45 ^a	philic	^m 1.84 x10 ⁻⁷	L	1.08 x10 ⁻¹⁰	NV
CAF	194.19	10.4 ^a	21600 ^g (25)	H	-0.07 ⁱ	philic	^m 7.33 x10 ⁻⁹	L	3.58 x10 ⁻¹¹	NV
SMX	253.28	5.7 ^d	610 ^g (37)	H	0.89 ⁱ	philic	^m 6.93 x10 ⁻⁸	L	6.42 x10 ⁻¹³	NV
DCF	296.16	4.15 ^a	2.37 ^h (25)	L	4.51 ^k	phobic	^m 6.14 x10 ⁻⁸	L	4.73 x10 ⁻¹²	NV

Where ATZ = atrazine, DEA = desethylatrazine, E2 = 17β-estradiol, EE2 = 17α-ethynylestradiol, NOR = norethindrone, CBZ = carbamazepine, CAF = caffeine, SMX = sulfamethoxazole, DCF = diclofenac and A = average, H = high, L = low, V = volatile, NV = non-volatile

The data were collected from ^a SRC PhysProp database <http://www.syrres.com>, ^b[168], ^c HSDB database <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>, ^d Drugbank database <http://www.drugbank.ca/>, ^e [169], ^f [170], ^g [57], ^h [171], ⁱ [58], ^j [172], ^k [173], ^l [174], ^m [175] and ⁿ [83].

All isotopically-labeled compounds used as internal standards were purchased from Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (Andover, MA, USA) except diclofenac (DCF-d₄, 99%, solid) which was obtained from CDN Isotopes (Pointe-Claire, PQ, Canada). Other chemicals used were of analytical grade and used without further purification: silver nitrate (AgNO₃), copper sulfate (CuSO₄) and methanol obtained from Fisher Scientific (Whitby, ON, Canada) and mercury chloride (HgCl₂) obtained from BDH Chemicals (Montréal, PQ, Canada). Sodium hydroxide 1M (NaOH) was prepared by dissolution of the commercial compound in water. Formic acid was obtained from Sigma Aldrich (Oakville, ON, Canada). Ultrapure distilled-deionized water (dd-H₂O) was obtained by filtration on a Milli-Q apparatus (Millipore, USA).

Individual compound stock solutions were prepared in methanol (MeOH) at a concentration of 1000 mg L⁻¹ and kept at -20°C in amber vials for a maximum of 6 months. Mixed 20 mg L⁻¹ working solutions were prepared by diluting stock solutions in MeOH and kept for a maximum of 6 months. Individual stock solutions (1000 mg L⁻¹) of silver nitrate, copper sulfate and mercury chloride were prepared by dissolution of the appropriate compound in acidified dd-H₂O and stored in LDPE amber bottles at

ambient temperature for the length of the project. Individual working solutions (10 mg L⁻¹) were prepared by dilution in dd-H₂O.

3.2.2. Water studied & characterisation

For the four laboratory bench-scale experiments, two types of water were used: surface fresh waters samples and effluents from PST. The first surface river water was taken from urban/industrial stretches of the Milles-Iles River and also collected from the Ste-Rose drinking water treatment plant intake (Laval, QC), during March 2012. The second was sampled directly from the top of the river's water column, 2 km up-stream of the Ste-Rose plant, (SE 45.608304,-73.804396), during late September of 2012. The other two water samples were municipal effluents from a PST pilot located in the vicinity of Quebec City, QC, and sampled twice: in February and June 2012. The various reported kinetic experiments carried out are summarized in **Table III-2**.

Table III-2 Kinetic experiments assessed

Water type tested	Test duration (days)	Filtration porosity (µm)	Water temp. (°C)	Parameters evaluated ⁱ	Experimental code
I - Urban river	469	0.45	4 ± 0.5	Common parameters ⁱⁱ ; chemical degradation estimation	#I4
			ambient (21 ± 2)		#I21
II - Urban river with aeration during incubation	171	0.45	ambient (21 ± 2)	Common parameters ⁱⁱ ; chemical degradation estimation	#II
III - Wastewater PST effluent	135	Raw	4 ± 0.5	Common parameters ⁱⁱ	#III4
			ambient (21 ± 2)		#III21
IV - Wastewater PST effluent	72	Raw ⁱⁱⁱ	4 ± 0.5	Biocides ^{iv} effect on analytes; Chemical versus biological degradation	#IV4
			21.5 ± 0.5		^{iv} #CIV4
					#IV21
					^{iv} #CIV21

ⁱ Photolysis was always inhibited using aluminium foil and long term adsorption on microcosm vessel minimized

ⁱⁱ Micropollutants stability over time and the length of the adaptation period were tested for all waters and hence considered common parameters

ⁱⁱⁱ Temperatures were chosen in relation to typical Canadian PST water temperatures

^{iv} "C" represents controls where biological activity was inhibited with addition of biocides: [Cu²⁺] = 9.5 mg L⁻¹, [Ag⁺] = 16 mg L⁻¹, [SMX] = 10 mg L⁻¹ and acidified with formic acid

Water samples were collected in 4-L amber glass bottles previously washed and rinsed with ultrapure water and autoclaved at 121°C. Filtrations were done under suction with

0.45- μm nitrocellulose membrane manufactured by Millipore (Billerica, MA). Characterisations were usually done up to 48 hours after collection. The incubation experiments were begun within 48 h from sample collection. Experiments were realized at ambient pH to recreate real conditions except for experiments #CIVs, which are the biocide controls. Preliminary tests suggested that SMX (an antibiotic) could induce bacteriostatic or bactericide effects on the microbial flora of the effluent. Hence, all the series of bottles were doubled in experiments #III-IV to evaluate SMX individually so as to prevent this potential effect. In the biocide controls, prior to the experiment, the water samples were spiked with 9.5 mg L^{-1} of Cu^{2+} and 16 mg L^{-1} of Ag^+ , given that the bactericidal effect is known to be either additive or synergic when both metals are added together [130]. The control samples were acidified to $\text{pH} \approx 4.5$ with formic acid to maintain the bioavailability of the metals. Water characterisation parameters were evaluated according to the test objectives. Solution pH was measured with a VWR SB20 pH-meter, bacterial count with an Olympus BX51 fluorescence microscope, and dissolved organic carbon (DOC) & total organic carbon (TOC) with a Sievers 5310 TOC Laboratory Analyser. Hach methods 10205 & 10208 were used for NH_4 & N_{tot} as well as an Ultrospec 3100 pro UV-Vis spectrophotometer at 630 nm. Turbidity was measured with a Hach 2100N Series Laboratory Turbidimeter. Total suspended solids (TSS), chemical oxygen demand (COD), conductivity and alkalinity were respectively measured following APHA 2005 standard methods 2540D, 5220D, 2510B & 2310B. Finally, lipids were measured by repeated Soxhlet extraction with hexane and sugars by colorimetry [176].

Water characterisation results are presented in **Table III-3**. For biodegradation experiments, the standardised method from ours was inspired states that a semi-continuous procedure may be necessary if the lag phases of the compounds exceed 60 days, i.e. if no degradation is observed after 2 months [107]. In this case, a periodical renewal of the system would have to be done by changing a percentage of the test water or by adding nutrients. The OECD protocol also states that if the experiment time should not exceed 90 days, the renewal is not necessary. In our case, we did not renew the system for experiments #III-IV given those recommendations. Further explanations are given with the results.

3.2.3. Sample preparation & analytical methods

The compounds were analysed by LDTD-APCI-MS/MS, using a previously published method [1]. Since all experiments were launched by spiking compounds at concentration 10 to 10^3 higher than expected real concentrations in such water samples [19, 20, 32, 33, 41-43, 52, 65, 159-162], the measured concentrations during the bench-scale experiments were in a concentration range that did not require the lengthy solid phase extraction procedure that is required for the trace levels usually found in environmental samples. Thus, by avoiding SPE steps (which could take several hours per sample), the present study saved time and resources that allowed this project to include a much larger number of samples. The concentrations of the analytes that would have already been present in the studied water sample were not significant relative to the spiked concentrations.

Preliminary tests were carried out to maximize sensitivity and minimize analytical variability using this modified spiking procedure. The organic solvent fraction (MeOH % added) in the samples for quantification and the sample volume deposition (μL) were optimized, with final selected values of 50% MeOH, 3 μL sample deposition for waters I-II and 5 μL for waters III-IV. Resulting LOD and LOQ are summarized in **Tableau II-12**. Accuracy tests were carried out only in raw wastewater, adding a concentration of 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ which corresponds to a value between LOQ's and the experimental concentrations for all compounds. As can be seen in **Tableau II-10**, results were conclusive with measured recovery values ranging from 81.9 to 114% except for SMX at 125%. Such recoveries obtained using the worst of our matrices were deemed acceptable.

To summarize the quantification procedure, the samples recuperated during the bench-scale experiments were first spotted (3-5 μL) into the Lazwell 96-well metal plate cavities and then left 15 min in a forced air oven at 35°C to dry. During operation, an infrared (IR) laser diode (980 nm, 20 W, continuous) is focused on the back of the well, the dried sample is then thermally desorbed, vaporizing itself into the gas phase. With a carrier gas, the uncharged analytes move along the transfer tube into the atmospheric pressure chemical ionization (APCI) area. The tube inserted into the well prevents sample losses. The analytes are ionized by the APCI when they reach its corona needle, just before being transferred into the MS inlet, where they will be

fragmented and quantified. The LDTD and MS/MS parameters optimized previously by Boisvert *et al.* [1] are summarized in **Tables I-1 to I-3** (see **Chapter 1**).

3.2.4. Laboratory bench-scale experiments

3.2.4.a. Common procedures to all studied systems and analytes

To test potential long term compound losses by adsorption on vessels, a preliminary test inspired by Vanderford *et al.* [111] was carried out over 14 days and was run on untreated and silanized amber glass bottles as well as HDPE bottles. Results (provided in **Figure 2.7**) suggested that untreated amber glass was the best option because of its capacity to block photolysis, its non-significant surface compound adsorption and its time saving (because no glass pre-treatment is required relative to using silanized glass). Hence, all experiments were carried out in 30-mL large neck amber vials provided by Fisher Scientific (Whitby, ON, Canada). All assays were run in duplicate. Microcosms were all incubated in controlled temperature chambers reflecting seasonal variations: $4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ and $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ¹ for experiments #I-II, $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ¹ for experiment #III and $4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ and $21.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ for experiment #IV. These temperatures were selected based on average data collected from a WWTP in the Quebec City area. The mixed working solutions of analytes in MeOH were used initially to spike the nine compounds at a concentration of $400 \mu\text{g L}^{-1}$ in all studied systems. The proportion of MeOH in the spiked systems was always between 1 and 2 %. No studies indicate that such MeOH levels could cause significant bactericide or bacteriostatic effects which are actually expected to cause significant adverse effects on the growth of 5 bacterial species when above 4% in the growth medium [151]. Aliquots of 500 μL were collected from the incubated bottles at specific time intervals into a 2 mL amber vial containing $100 \mu\text{g L}^{-1}$ of all six IS in 500 μL of MeOH (the solvent initially chosen to optimize the ionisation in APCI). Compounds in the samples were then quantified by LDTD-APCI-MS/MS to determine their residual concentration. The first quantification was always done at least 5 hours after having spiked the compounds in the studied waters to minimize competition between compound sorption on colloids and degradation.

3.2.4.b. Procedures unique to specified systems

As can be seen in **Table III-2**, experiments I and II were carried out to estimate the chemical degradation in urban river waters. Microbial activity in the water tested was

¹ Room temperature for experiments #I and II

inhibited by filtration through 0.45 μm membranes. Since adequate filtration is a known physical approach to sterilize water [116], and in this case, no other parameter was evaluated, controls were not deemed necessary and furthermore, impossible to run in parallel. Unlike experiment I, waters in experiment II were oxygenated by slowly bubbling air 60 min per day through a pipette tip. In order to achieve this, all bottle stoppers were accurately perforated to fix tips and avoid negative pressure inside microcosms. To correct long term water losses by evaporation, mathematical factors were calculated after every analysis by weighting the bottles. Losses through volatilization were improbable according to their physico-chemical properties (summarized in **Table III-1**). Further studies confirmed that air bubbling was unnecessary to maintain aerobic conditions in the experimental conditions [129] because of the adequate head space involved. This process was hence not used in the subsequent experiments.

Experiments III and IV were carried out on raw PST effluents. No filtration was done because it would have changed the composition of the water. Eliminating most of the microbial population would have not answered the objective which was to measure the microbial degradation. Controls with minimum microbial activity were run in parallel by adding biocides, as summarized in **Table III-2**. Concentrations used were substantially higher than typically recognized microbiological lethal thresholds [135, 138] to thus ensure the elimination of biodegradation. SMX was evaluated in a separate series of bottles to prevent its possible bacteriostatic effect [145]. Unlike experiment II, filtration could not be used to minimize microbial activity here because it would have significantly altered the studied environment by removing suspended particulates. Copper sulfate and silver nitrate were used together because their combination is known to have synergic effects as biocides [130]. Preliminary tests confirmed that they would not interfere with the quantification when added in the calibration solutions. SMX ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) was added to controls to assure that the samples were disinfected.

Sodium azide, an effective biocide widely used in similar experiments [124] could not be used because of its capacity to chemically transform atrazine (ATZ), one of the target analytes [128]. Autoclaving, another widely used method [85], was not chosen because three autoclaving cycles would have had to be realized within three days in order to properly sterilize such a complex aqueous system and it would likely have add a significant change on the chemical composition. Furthermore, the efficacy of autoclaving could not even be guaranteed given the importance of TSS presence [119].

3.3. Results and Discussion

3.3.1. Water characterisation

Water characterisation results are given in **Table III-3**. Some measured parameters differed among the various sub-experiments given the availability of analytical resources.

Table III-3 Characterisation of water samples.

Water type	Experimental code	Initial water characteristics
0.45 μm filtered urban water	#I4, #I21, #II	pH 7.42-7.46
		bacterial presence (nb L ⁻¹) negligible
		COT (mg L ⁻¹) 7.44
		Turbidity (NTU) 0.20-1.36
		Alcalinity (mg CaCO ₃ L ⁻¹) 33
		viable bacteria (nb L ⁻¹) 7.12 x10 ¹⁰
		total bacteria (nb L ⁻¹) 9.41 x10 ¹⁰
Raw wastewater primary settled tank effluent	#III, #IV	DOC (mg L ⁻¹) 14.2
		TOC (mg L ⁻¹) 18.7
		NH ₄ -N (mg L ⁻¹) 5-25
		COD (mg O ₂ L ⁻¹) 170-278
		TSS (mg L ⁻¹) 90-127
		Lipids (mg L ⁻¹) 0.05-0.16
		Carbohydrates (mg L ⁻¹) 13-47
		Water discharge Q (m ³ h ⁻¹) 8

3.3.2. Determination of rate constants for compound degradation

Depending on the target compound concentration and the microbial population, different biodegradation kinetic models have been proposed (see **Figure 3.4** of the Appendix A. Supplementary Material) [177]. Other factors not represented in this approach can certainly influence degradation and should be integrated as necessary.

For the water samples involved in this study, the microbial densities of samples in experiments #III and #IV are so large that we do not expect the target compound concentrations to cause any significant bacterium increase in the systems. Hence, under this approach, the degradation would obey to a pseudo first order kinetic (see details in

supplementary material section). We have thus selected to use the first order kinetic model and applied it to all our data, confirming or invalidating it according to linear regression coefficient values and general curve aspects.

Using this model, the degradation rate of a compound will only depend on the concentration of one substance - the target analyte itself [155]:

$$V = -\frac{d[C]}{dt} = k[C] \quad (4)$$

Where V is the degradation rate in $\mu\text{g L}^{-1} \text{ days}^{-1}$, t is time in days and $[C]$ is the compound concentration in $\mu\text{g L}^{-1}$. Plotting $\text{Ln}([C_0]/[C_t])$ versus time, obtained by integration of equation (4), yields a line with a slope k , the degradation rate constant in days^{-1} . Previous reports [18, 27, 45, 52, 59, 88, 90, 92, 156] have successfully used the same model for those compounds in comparable environments. Only the concentrations in the pertinent range involved in the degradation process were considered for the k calculations: measured concentrations that were not statistically different from the initial concentration were considered to be part of the lag phase and were not used for the calculation of the degradation constants. The results indicated that the length of the lag phase was influenced by the water composition and the experimental conditions. Occasionally, after a significant reduction of the compound concentration over time, statistically identical points were measured consecutively. In some cases, the concentration of the compound had reached a value below the limit of quantification of the method (LOQ). Therefore, it was not possible to quantify the remainder of the phenomenon but it was not necessary since three points were enough to apply the kinetic model to the data. In some other cases, it was obvious that the degradation had stopped because the quantified concentrations were still above the LOQs. It is possible that at some point, the microbial density was not large enough to consume the target compounds because of a lack of essential nutrients, causing mortality among microbial populations. A sample plot is provided in **Figure 3.5** of the **Appendix A. Supplementary Material**.

3.3.3. First order kinetic validity

Not all the target analytes disappeared over time in the studied conditions. We calculated the degradation rate constants for the 48 cases in which degradation was observed (**Table III-4**). For 8 of them, the degradation phase was partly missed. Since the sampling frequency was decreasing over time, the compounds with long lag phases

may have fully degraded between two measures. Since the resulting k was calculated with only two points and no R^2 could be used to validate the model, such results are indicative but must be considered approximate. Among the 40 other cases, 33 were linear with R^2 values over 0.80 and 25 cases had R^2 values over 0.90, which was deemed satisfactory. Six other R^2 values were between 0.50 and 0.799, the lower R^2 are attributed to high variability of replicate rather than non-compliance of the kinetic model. The single worst fit observed at an R^2 of 0.277 is simply attributed to analytical or microbial contamination issues and should not be over-interpreted with respect to the degradation model.

3.3.4. Sorption

Preliminary tests suggested that the studied compounds reach equilibrium relatively quickly (0-5 hours) when spiked into the examined waters. Authors reported similar data for ATZ (2h) [143], SMX (2h) [126], E2 & EE2 (1h) [144] in water:sediment systems. According to their relatively low K_{ow} , all studied compounds except E2, EE2, NOR & DCF (**Table III-1**) should exhibit a minimal tendency to sorb onto the suspended particles in the studied waters. Low post-equilibrium sorption (<10%) was reported for ATZ [143] with $4 \text{ g}_{TSS} \text{ L}^{-1}$ and SMX [126] in water samples with $2.56 \text{ g}_{TSS} \text{ L}^{-1}$ while a similar microbial degradation study reported minimal sorption for CAF, CBZ and SMX [85] in $1 \text{ g}_{TSS} \text{ L}^{-1}$ waters. Considering that the particle loads in this current study were substantially lower (highest value of $0.127 \text{ g}_{TSS} \text{ L}^{-1}$ **Table III-3**), it seems safe to suggest that losses due to sorption onto suspended solids will not be important for ATZ, DEA, CBZ, CAF and SMX during the incubations. The lipophilic compounds (E2, EE2, NOR and DCF) could certainly show an important affinity for the TSS, but the added concentrations exceed the concentration of TSS – so the effect of TSS sorption should be minimized. Since other preliminary tests suggested that degradation rates are slow (days-months) and hence $k_{sorption} > k_{degradation}$, setting the initial conditions after sorption equilibrium ($T_0=5\text{h}$ after spiking) seemed a good way to correct for sorption effects without compromising the data for degradation.

3.3.5. Persistence

Comparing experimental results relative to the data reported in the literature must be done carefully because half-lives and degradation rate constants are highly dependent on environmental conditions. Hence, there is an important diversity among values

reported by previous authors. In the present study, ATZ, DEA, CBZ and DCF were stable in all aqueous systems, with no significant decrease over 469, 171, 135 and 71 days (experiments #I, II, III and IV).

3.3.5.a. Atrazine (ATZ) & Desethylatrazine (DEA)

Some reported values indicate that in aqueous systems, the hydrolysis of atrazine is extremely slow [11], with an estimated half-life of 742 days in a water sample containing 5 mg/L of fulvic acid at pH 7. The same authors reported no loss of atrazine in an autoclaved estuarine water after 128 days. Our results from experiments #I and #II support the conclusion that the chemical degradation of atrazine is either extremely slow or non-significant in natural aqueous systems, with no significant disappearance at 4 ± 0.5 or $21\pm 2^\circ\text{C}$ for 469 and 171 days respectively. Furthermore, controls in experiment #IV (systems minimizing microbial activity) also support that conclusion with no disappearance between 4 and 21.5°C .

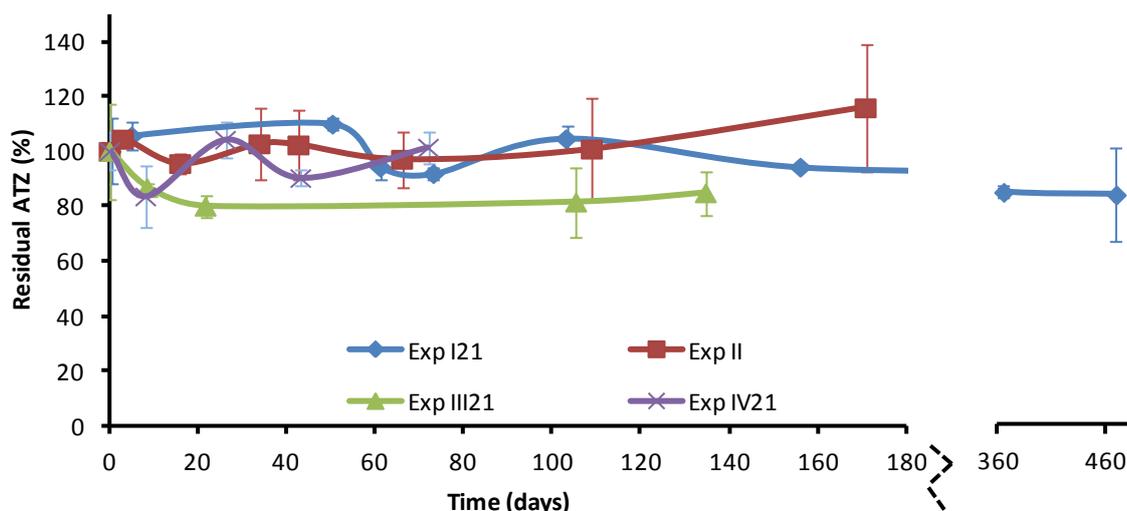


Figure 3.1 Residual atrazine (%) over time (days) in different water systems with an initial spiked concentration of $400\ \mu\text{g L}^{-1}$. Error bars represent relative standard deviation of duplicates measurements. Similar results (see Annexe B) were obtained for Exp I4 (**Figure B.1**), III4 (**Figure B.19**), IV4 and controls CIV4 & CIV21 (**Figure B.28**) and were omitted here to ease the graphical representation.

The persistence of atrazine in such dirty waters after respectively 135 and 71 days leads us to believe that typical microbial populations in PST effluent waters with an initial high number of bacteria ($10^{10}\ \text{L}^{-1}$) are not sufficient to induce disappearance at temperatures representing seasonal variations. With low aqueous photolysis values

reported in natural conditions and physico-chemical properties disfavoring sorption onto suspended particulates [11] as can be seen in **Table III-1**, we can fairly assume that atrazine will persist in similar aqueous systems unless environmental stress occurs. Among the studied compounds, atrazine is probably the most studied. Nonetheless, there are no comparable data pertinent for PST effluents and only a few have been found for degradation in aquatic environments. Degradation and short half-lives have been reported in environmental systems but they concerned sludge, sediments or soils [79] which contain significantly higher bacterial densities than aqueous systems [145]. Extensive biodegradation studies have been done in pure bacterial cultures and bioreactors. Reported values vary largely from partial to complete elimination in minutes, hours, days and weeks [178].

Desethylatrazine behaved like its precursor ATZ and did not degrade in our systems (see **Annexe B**, **Figure B.2**, **Figure B.11**, **Figure B.20** and **Figure B.29**). The environmental fate of DEA in aqueous systems is poorly documented, but some results have shown that it can sometime be present in surface waters at concentrations above that of atrazine [17]. The persistence of ATZ and DEA in our studied waters lead us to suggest that this phenomenon could be due to a biological degradation of ATZ to DEA in the agricultural soils followed by surface run-offs. Further tests should be carried on freshwaters and WWTP outlets to validate those conclusions because most of reported degradation values focus on water/sediment systems or estuarine/marine systems.

3.3.5.b. Carbamazepine (CBZ)

The degradation of carbamazepine in aqueous systems is not as documented as atrazine but there is significant information about its capacity to biologically degrade in bioreactors and activated sludge processes. The slow performance of such treatments has led to the categorization of CBZ as not readily biodegradable [165]. Its low capacity to be degraded by photolysis [67] contributes to its persistence in surface waters and supposedly in PST effluents. Current results support this statement with little or no disappearance of CBZ in all water samples tested. Carbamazepine has a relatively low affinity for suspended particles (**Table III-1**), and hence its concentration in water could be slightly decreased by sorption but will not decrease significantly by chemical and biological degradation, nor by natural light.

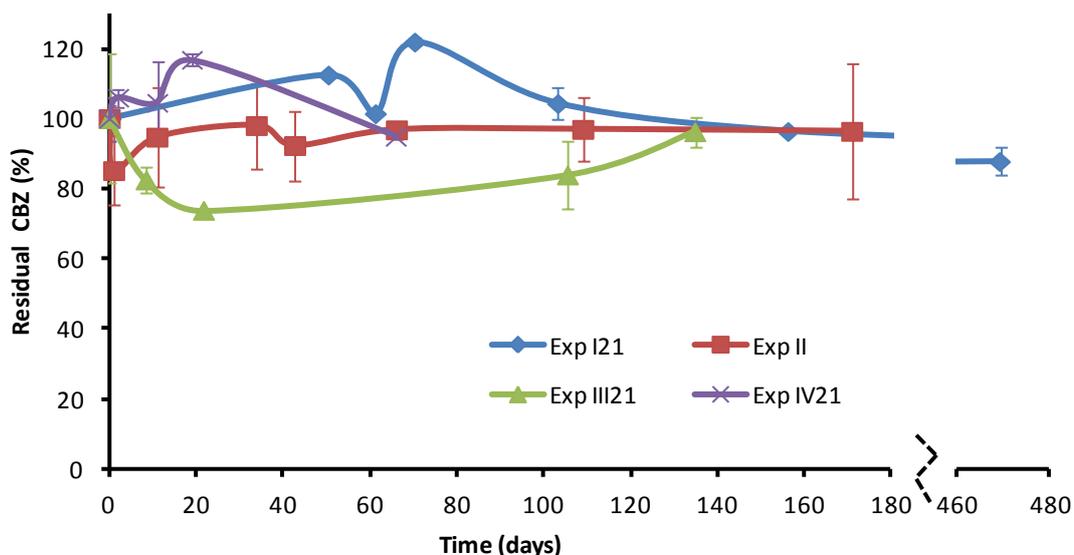


Figure 3.2 Residual carbamazepine (%) over time (days) in different water systems with an initial spiked concentration of $400 \mu\text{g L}^{-1}$. Error bars represent relative standard deviation on duplicates measurements. Similar results (see Annexe B) were obtained for Exp I4 (**Figure B.6**), III4 (**Figure B.24**), IV4 and controls CIV4 & CIV21 (**Figure B.33**) and were omitted here to ease the graphical representation.

3.3.5.c. Diclofenac (DCF)

With a log K_{ow} of 4.51 (**Table III-1**), diclofenac is considered hydrophobic and its concentration in natural water systems should be influenced by sorption onto colloids and suspended solids. Photolysis has been reported to be extremely effective on DCF with a reported value of 90% removal through phototransformation in the surface water of a Swiss lake spiked at 100 ng L^{-1} [45]. The same authors reported that chemical and biological degradation should not be significant in this type of water. Given that no degradation was reported in activated sludge in 28 days [45], we did not expect much degradation in our system - which was confirmed by the results (**Annexe B, Figure B.9, Figure B.16, Figure B.27 and Figure B.36**). As observed for ATZ, DEA and CBZ, DCF did not show any signs of degradation neither in the controls nor in the studied water samples, suggesting that neither the chemical nor the biodegradation contributed to DCF loss in such systems. Hence, kinetic parameters were not calculated. This also suggests that minimizing sorption effects by running the first analysis at least 5 hours after spiking was successful.

3.3.6. Compound degradation

3.3.6.a. Microbial adaptation periods – Compound lag phases

The microbial adaptation period corresponds to the time required for the bacteria to produce the specific degradation enzymes necessary for their growth and consumption of the medium. It is associated to the chemical lag phase, the period during which no biodegradation is observed. It is often observed in biodegradation experiments because the aqueous systems tested need to adapt to the disturbance caused by the addition of the tested chemicals.

As presented in **Table III-4**, 20 out of 23 degradation tests were preceded by a lag phase, varying from 0.5 to 109 days, excluding one that lasted almost a year. Except for one of the SMX replicate in experiment #III at colder temperatures, no lag phases exceeding 60 days were observed in the biodegradation experiments (#III-IV). This supports the proposition of the OECD that in such situations, no renewals of the water or nutrient additions should be necessary [107]. Since all the other compounds degraded in the same duplicate with either no lag phase or with a lag phase never exceeding 22 days, we did not deem it necessary to proceed with semi-continuous tests [107]. The graphs presenting the residual percentage of the compounds left in the different water systems over time show that the duration of some of the experiments exceeded 90 days (**Figure 3.1**, **Figure 3.2** and **Figure 3.3**). However, the extended experiments purposely emphasized the study of the stability of the compounds over time. All the experiments in which there was biodegradation did not exceed 90 days (or barely did), which is consistent with the standardised method 309 [107].

Not surprisingly, within the same systems, lag phases were shorter at higher temperatures. This pattern was always respected, regardless of the compound and the conditions, which is consistent with recognized concepts [116]. It has been demonstrated that systems with lower nitrogen and phosphorus concentrations exhibit longer microbial adaptation to newly exposed chemicals [179], which we can assimilate to the comparison between the PST effluent waters (experiments #III-IV) compared natural surface waters filtered to 0.45 μm (experiments #I-II). The temperature-related pattern makes sense too, bacterial growth is more efficient at 20°C than at 5°C [116]. It would have been interesting to calculate the processes' activation energies with the Arrhenius equation but it was not possible because it requires more than 2 temperatures per tested conditions. Two other factors could have influenced and may be responsible

for the longer periods presented at **Table III-4**. Launching kinetic experiments up to 48 hours after water collection may have slowed down or even stopped the bacterial growth, the microorganisms being in an enzymatic sleeping mode and hence requiring more time to re-establish themselves [116]. Nonetheless, this seems unlikely to occur in PST effluents. Finally, spiking compounds at concentrations higher than environmentally pertinent concentrations could certainly extend the adaptation period [180].

Table III-4 Lag phases (L_p), pseudo first order disappearance rate constants (k) & half-lives ($t_{1/2}$) \pm standard deviation of duplicate incubations

Compound	Water type tested	Urban river water			Wastewater from PST outlet		Wastewater from PST outlet			
		Urban river water	Urban river water with aeration during incubation	Urban river water with aeration during incubation	Wastewater from PST outlet					
	Experiment code	I4	I21	II	III4	III21	IV4	CIV4	IV21	CIV21
ATZ	L_p (days)	ii, iii n.a.								
	k (days ⁻¹)	i n.a.	ii 0.0007 \pm ii, iii n.a.	iv n.a.	v n.a.	v n.a.	vi n.a.	vi n.a.	vi n.a.	vi n.a.
	$t_{1/2}$ (days)	ii 990 \pm ii, iii n.a.								
E2	L_p (days)	73 < \geq 70	50 < \geq 5	11 < \geq 3	none	none	26 < \geq 2		2 < \geq 0.5	43 < \geq 2
	k (days ⁻¹)	0.003 \pm iii n.a.	0.123 \pm 0.003	0.019 \pm 0.0028	0.017 \pm 0.003	0.074 \pm 0.023	0.018 \pm 0.004	vi n.a.	ix 0.59 \pm 0.03	0.0064 \pm 0.0049
	$t_{1/2}$ (days)	248 \pm iii n.a.	5.7 \pm 0.1	36 \pm 5	40 \pm 7	9.8 \pm 3.1	40 \pm 9		ix 1.2 \pm 0.1	155 \pm 120
EE2	L_p (days)		364.5 < \geq 301.5	109 < \geq 34		21.5 < \geq 0			66 < \geq 26	
	k (days ⁻¹)	i n.a.	0.015 \pm iii n.a.	0.0043 \pm 0.0023	v n.a.	0.0068 \pm 0.0023	vi n.a.	vi n.a.	0.036 \pm 0.003	vi n.a.
	$t_{1/2}$ (days)		47 \pm iii n.a.	187 \pm 98		108 \pm 36			19 \pm 2	
NOR	L_p (days)			11 < \geq 3	21.5 < \geq 8.5	8.5 < \geq 0	43 < \geq 26		26 < \geq 1	
	k (days ⁻¹)	i n.a.	i n.a.	0.0039 \pm 0.0004	0.022 \pm 0.002	0.1102 \pm 0.0001	ix 0.041 \pm 0.023	vi n.a.	ix 0.119 \pm 0.074	vi n.a.
	$t_{1/2}$ (days)			179 \pm 19	32 \pm 4	6.3 \pm 0.0	ix 20 \pm 11		ix 7.2 \pm 4.5	
CAF	L_p (days)				21.5 < \geq 8	8.5 < \geq 0	66 < \geq 19		none	
	k (days ⁻¹)	i n.a.	i n.a.	iv n.a.	0.011 \pm 0.003	0.037 \pm 0.003	x 0.055 \pm 0.009	vii n.a.	0.087 \pm iii n.a.	vii n.a.
	$t_{1/2}$ (days)				65 \pm 20	19 \pm 2	x 12 \pm 2		7.9 \pm iii n.a.	
SMX	L_p (days)				105.5 < \geq 0	8.5 < \geq 0			11 < \geq 2	66 < \geq 19
	k (days ⁻¹)	i n.a.	i n.a.	iv n.a.	0.0082 \pm 0.0008	0.035 \pm 0.003	viii n.a.	vii n.a.	0.049 \pm 0.030	0.016 \pm iii, vii n.a.
	$t_{1/2}$ (days)				85 \pm 8	20 \pm 2			17 \pm 11	42 \pm iii, vii n.a.

No significant disappearance observed after ⁱ469, ^{iv}171, ^v135, ^{vi}72, ^{vii}66 or ^{viii}19 days (experiment length)

ⁱⁱ successive concentrations quantified over time statistically identical but overall disappearance observed

ⁱⁱⁱ phenomenon observed for only 1 duplicate

^{ix} for one duplicate, the rate constants have been calculated with only two points over time

^x for both replicates, the rate constant have been calculated with only two points over time

3.3.6.b. *Estradiol (E2), ethinylestradiol (EE2) and norethindrone (NOR)*

No reported values have been found for NOR but various authors [26, 27, 82] have suggested that chemical degradation is not significant for E2 and EE2 in waters with reported persistency in sterile river waters after 5 and 16 days of incubation. Results in our control bottles tend to confirm that E2, EE2 as well as NOR do not degrade so readily. They were all stable in PST wastewater effluents at the temperature tested for 72 days (CIV4 & CIV21). No significant degradation was noted for E2 and NOR in 0.45 μm filtered river surface waters (I4 & II respectively). However, significant degradation of E2 was noted at higher temperatures (I21, II), contradicting previously reported values and current results. Even if the technique is known to sterilize waters, microbial inhibition in controls (I-II) by filtration through 0.45 μm membrane may have been inefficient because of mycoplasma, the smallest bacterial genus. Their typical 0.1 μm size would allow them to pass through the filters, making the control waters disinfected but not sterilized. Manipulations were made under clean but not sterile conditions and it is possible that microbial contamination occurred during the experiments. The results may hence be attributed to microbial degradation but should be interpreted carefully. Nonetheless, EE2 (a synthetic steroid) is known to be more persistent than E2 (a naturally-occurring hormone) as is observed here. Results in PST effluents were conclusive, microorganisms being able to degrade the 3 compounds within less than about two months in the worse conditions. Results in both experiments were similar and standard deviations among duplicates were low. The half-lives of E2 averaged ≈ 40 days at 4°C and 1.2-9.8 days at higher temperatures. We observe that EE2 was more persistent under cold conditions and no degradation was noted at 4°C while the half-lives of NOR averaged 20-32 days under cold conditions and 6.3-7.2 days with warmer temperatures.

3.3.6.c. *Caffeine*

Previous studies suggested that CAF could be used as an anthropogenic marker in surface waters because of its persistency in aqueous systems [52]. They measured no loss related to chemical processes in lake waters at 20°C. This was confirmed by our results in experiments I, II and CIV. Significant degradation was not observed in river waters and PST effluents control samples, confirming that chemical processes are not

expected to significantly contribute to the loss of CAF in environmental aqueous systems. Typical concentrations of microorganisms in surface waters are not expected to be sufficient to induce biodegradation when measured in rivers up-stream and down-stream of 3 WWTPs at 23°C [89]. However, others have reported the complete biodegradation of CAF at 19 °C in 3 and 10 days in a WWTP's affluent and effluent respectively [90]. This suggests that microorganisms can degrade CAF when biological conditions are appropriate. Our results support this theory, with measured biodegradation in the PST effluents and half-lives ranging 12-65 days at 4°C and 7.9-19 days at 20°C.

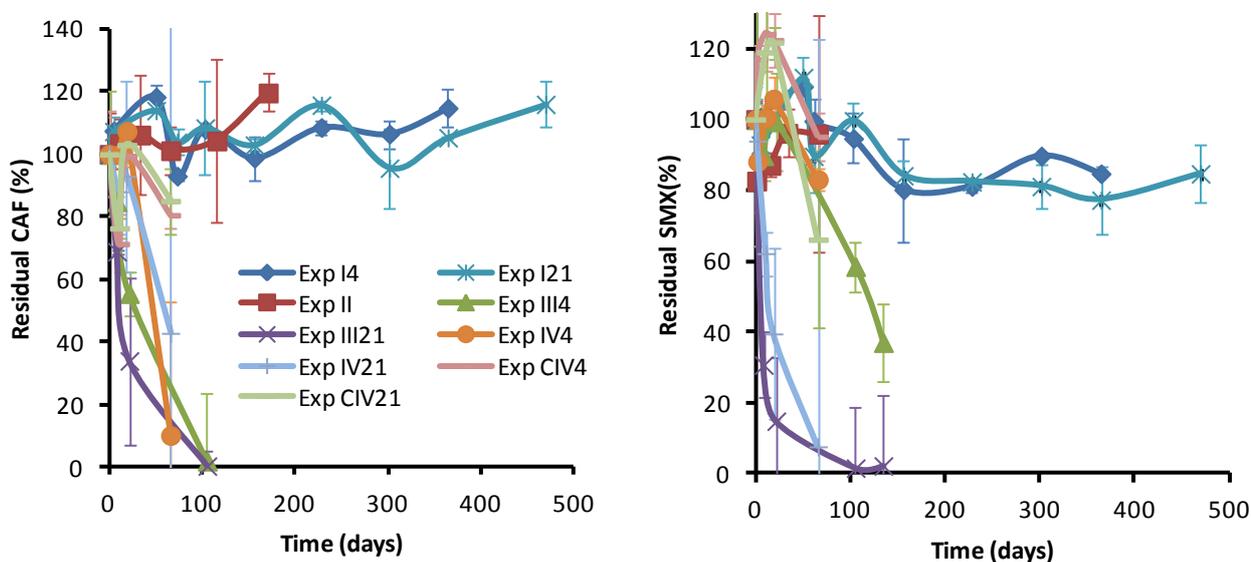


Figure 3.3 Residual caffeine and sulfamethoxazole (%) over time (days) in different water systems with an initial spiked concentration of 400 $\mu\text{g L}^{-1}$. Error bars represent relative standard deviation on duplicate measurements.

3.3.6.d. Sulfamethoxazole

Results (Table III-4 and Figure 3.3) suggest that chemical degradation does not contribute to the loss of SMX in aqueous systems, with no concentration decrease observed in experiments #I-II and in the control of experiment III at 4°C. One single control replicate presented a significant SMX decrease in PST effluent at higher temperature (Exp CIV21, Table III-4 and Figure 3.3). This anomaly probably results from a contamination considering that [92] reported a persistency in sterile natural waters and a half-live of 47 days in eel pond waters due to microorganisms. Results in experiments III and IV showed that the biodegradation contribution is important in PST

effluents, with half-lives ranging from 17-20 days at 21.5 °C. An average half-life of 85 days has been found at colder temperatures (III). However, experiment IV4 had to be stopped at 19 days because of technical difficulties with the apparatus. No degradation was observed at that point but it is safe to say that the adaptation period was still in progress. Our results are consistent with reported literature data showing that >90% of SMX was degraded after ≈ 25 days in a WWTP equalization tank, which is a system richer in nutrients than our PST samples while no degradation was noted in the WWTP effluent, a system that is expected to be cleaner than PST [90].

3.4. Conclusion

The contaminants ATZ, DEA, CBZ & DCF were all persistent in the tested aqueous systems. Hence, chemical degradation is not expected to be significant for the losses observed for these compounds in typical surface river waters and primary settling tank (PST) effluent systems. The same is suggested with biological degradation in PST effluents. Unlike CBZ & DCF that have significant reported photolysis rates in aqueous systems [45, 84, 85], the reported rates of phototransformation of atrazine are extremely slow [78, 79] and it is safe to say that only biologically rich aqueous systems could significantly degrade atrazine. Unlike what was observed in biologically active samples of PST effluents, no degradation was observed in control samples for E2, EE2, NOR, CAF and SMX, thus suggesting that chemical degradation is not significant. However, E2 showed important losses related to chemical processes in surface river water systems at higher temperature, contradicting previous results and reported values, which may indicate that contamination occurred throughout our time series. Microbial degradation occurred at different levels for E2, EE2, NOR, CAF and SMX in PST effluents with k ranging 0.0068-0.59 d⁻¹ and half-lives of 1.2-108 days, E2 degrading the fastest at higher temperatures and SMX the slowest under colder conditions. Considering that PST generally have a water residence time of only a few hours, a rough estimation of degradation rates at the typically-occurring concentrations suggest that their elimination by degradation in this treatment is marginal.

The current results must still be interpreted carefully, the test incubation approach is unconventional and the sparse comparable literature data makes it difficult to fully extrapolate and compare our results. Further studies would be required to adequately characterize the degradation rates that could occur under field conditions for such compounds in real systems. Even if as many precautions as possible have been

considered, bench-scale simulation tests will never perfectly recreate environmental compartments because of the multitude of uncontrolled factors. Nonetheless, the data offer a general picture of the importance of degradation processes in PST effluents.

Acknowledgements

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

Appendix A. Supplementary Material

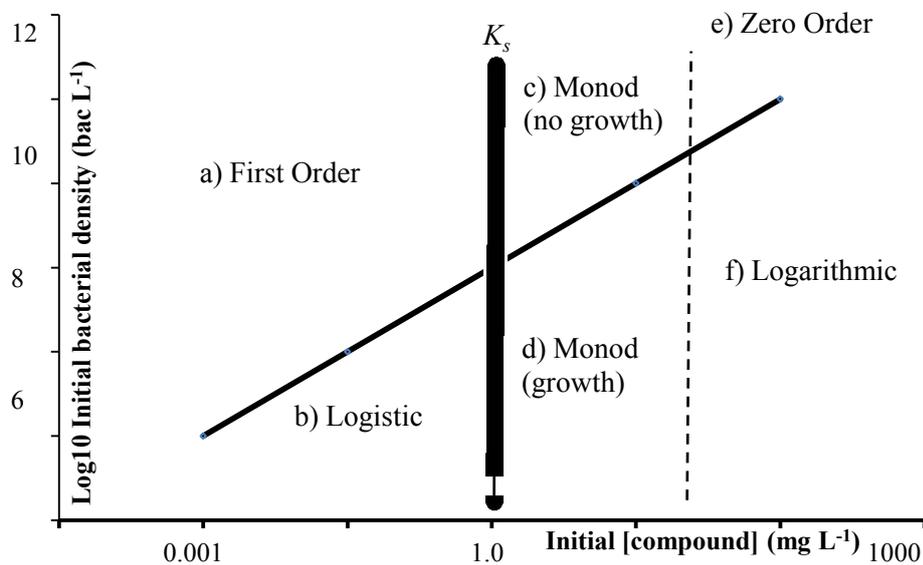


Figure 3.4 Kinetic models as a function of initial compound concentration and bacterial cell density according to [177]

The figure above represents the biodegradation kinetic models to use according to the initial bacterial density and the compound concentration in the studied aquatic environment. No significant bacterial growth should be observed above the diagonal plain line because the initial bacterial density is too large. The biomass of the environment is considered constant. The values of the bacterial density and the compound concentration where the lines intersect can vary depending on the environmental conditions but the general pattern of the figure should remain unchanged. Since we spiked the studied compounds at 400 $\mu\text{g L}^{-1}$, the kinetic models a) and b) would be the ones fitting our data, depending on the environment bacterial densities

present in the different experiments (see **Table III-3**). The values in filtered surface waters (experiments #I-II) as well as in the controls of the PST effluents (experiments CIVs), would put them in zone b). The high bacterial densities of the PST effluents would put them in zone a). Per definition, in this zone, there should not be any significant changes in the system biomass during the experiment, hence the first-order kinetics can be applied. The zone b) is called the logistic kinetics and represent a system in which the initial small bacterial density increase at a rate depending on the compound concentration, the limiting parameter. This rate progressively decreases as the compound is biologically degraded. It has been argued that generally, the precision of the degradation data is not good enough between the first-order and the logistics model to distinguish them.

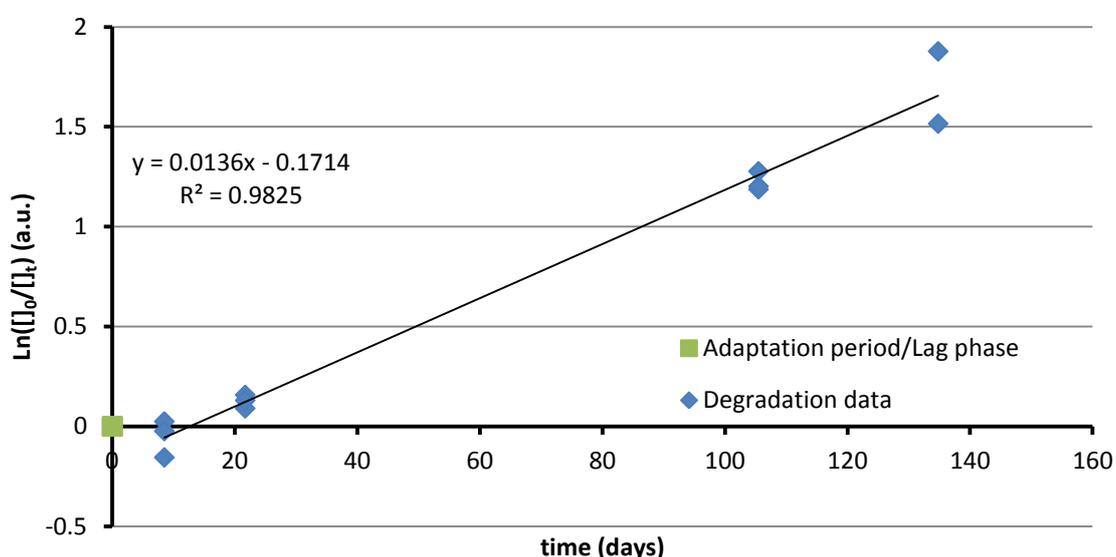


Figure 3.5 First-order kinetic plot for the degradation of [caffeine] initially spiked at $400 \mu\text{g L}^{-1}$ over time (days) in a raw PST effluent at 4°C . The solid line represents the linear regression of the measured data (including analytical variability of $n=3$) with its related equation and coefficient of determination (R^2).

4. Conclusion

La revue bibliographique dans l'introduction a permis de comprendre que la présence des neufs contaminants émergents à l'étude dans les milieux aquatiques pourrait être dangereuse pour la faune et la flore constituant nos écosystèmes. Quoique faibles (de l'ordre du ng L^{-1} et du bas $\mu\text{g L}^{-1}$) les concentrations réelles de ces composés sont parfois suffisantes pour induire des effets toxiques significatifs dans ces milieux. De nombreuses études publiées au cours de la dernière décennie l'ont démontré, et d'autres études viendront assurément soutenir ces conclusions au cours des prochaines années. Les effets sur les humains ne sont pas encore bien compris mais le contexte n'en est pas moins alarmant car l'homme finira toujours par subir les conséquences d'un environnement perturbé. Un pas dans la bonne direction serait de comprendre le comportement de ces contaminants une fois qu'ils sont introduits dans l'eau. La revue de la littérature effectuée a malheureusement démontré que ce sujet n'était pas assez compris, spécialement dans les milieux aquatiques où il y a un manque flagrant de données. La plupart des tests effectués se limitent à des cultures bactériennes ou des milieux synthétiques et leurs résultats s'extrapolent difficilement à des systèmes naturels comme les eaux de surface.

Un protocole a donc été mis en place pour mesurer l'ampleur de la dégradation dans différents milieux aquatiques : l'eau de surface et l'effluent d'un décanteur primaire d'eau usée municipale. Une batterie de tests préliminaires a été effectuée avant de lancer les expériences de cinétique. Les solvants et les volumes de déposition d'aliquote dans le puits LDTD ont été testés pour optimiser la quantification des analytes. Il a été choisi de diluer les aliquotes dans du MeOH 50 % avant leur dépôt dans le puits. Deux volumes de déposition ont été choisis, selon le type d'eau et le composé à l'étude : 3 μL pour toutes les analyses ayant été effectuées dans l'eau de surface filtrée 0.45 μm et 5 μL pour celles dans l'effluent du décanteur primaire, sauf pour les composés de la méthode 4 car l'augmentation du volume diminuait significativement le signal de SMX. Plusieurs tests ont été effectués pour essayer d'améliorer la répliquabilité et la répétabilité de l'analyse du DCF. Elle causait problème, peu importe le type de matrice. La ré-optimisation des paramètres LDTD et la mesure de l'influence du pH de la solution de déposition n'ont pas amélioré la situation. Par contre, l'ajout d'un revêtement d'EDTA d'environ 200 mg L^{-1} dans les puits LDTD avant d'y déposer les aliquotes a permis d'augmenter d'un facteur 10 le signal du DCF, ce qui aurait pu régler le problème.

Comme l'effet était antagoniste sur le SMX, il a été choisi de ne pas utiliser d'EDTA pour ne pas nuire à l'analyse de l'antibiotique. Le résultat est tout de même intéressant. Un autre test a démontré que l'utilisation de bouteilles en verre ambré non-traité était idéale pour les expériences de cinétique car les pertes par photolyse et par sorption sur les parois des bouteilles étaient minimales dans ces conditions.

Une étude des différentes méthodes d'inhibition de la flore bactérienne nous a permis de choisir la filtration comme méthode de stérilisation dans l'eau de surface. D'importantes pertes d'E2 dans un duplicata d'eau de surface à haute température ont été notées, ce qui est contradictoire à la littérature et aux autres résultats ici, suggérant que les échantillons se sont contaminés au cours de la cinétique, et/ou que la filtration n'a pas éliminé complètement les bactéries à T_0 . Pour une eau aussi dense en bactéries que l'effluent du décanteur primaire d'eau usée, c'est l'utilisation de cuivre et de l'argent à des concentrations bactéricides qui a été retenue. Une revue bibliographique et des tests préliminaires ont permis de comprendre que l'acidification des échantillons contenant les métaux maximiserait leur forme ionique libre, la plus biodisponible et donc la plus toxique pour les bactéries. Les résultats de dégradation dans les contrôles d'effluents ont démontré que l'inhibition bactérienne avait été efficace. Le protocole expérimental a été adapté en fonction d'expériences similaires ayant été menées [18, 27, 82, 85] et de la méthode standardisée 309 de l'OCDE [107].

Les contaminants ATZ, DEA, CBZ et DCF ont été persistants dans tous les systèmes aqueux testés. Cela suggère que l'apport de la dégradation chimique ne sera pas important si une diminution de leur concentration dans des eaux de surfaces ou des effluents de décanteur primaire typiques était observée. La même conclusion s'applique à la dégradation biologique dans l'effluent du décanteur primaire. Contrairement à CBZ et DCF pour qui les demi-vies de photolyse sont courtes, la photolyse d'ATZ est lente. Il est donc juste de croire que seuls des systèmes significativement plus riches en bactéries pourraient réussir à dégrader ce dernier. Les autres résultats suggèrent que l'apport de la dégradation chimique n'est pas très important pour les trois hormones, CAF et SMX car aucune dégradation n'a été mesurée dans les contrôles des effluents des décanteurs primaires d'eau usée. Ces cinq composés se sont cependant tous dégradés à différents niveaux dans l'effluent brut, avec des k calculés allant de 0.0068 à 0.59 j^{-1} et des demi-vies entre 1.2 et 108 jours. Le composé s'étant dégradé le plus rapidement fut l'E2 à haute température et celui s'étant dégradé le plus lentement fut SMX à basse température. Les vitesses de dégradation (pseudo ordre un) n'ont pas été

calculées mais tout indique qu'avec un temps de résidence de quelques heures seulement en moyenne, il est improbable que les composés se dégradent significativement durant leur passage dans le décanteur.

Les résultats du projet sont intéressants mais doivent tout de même être interprétés avec précaution. Non seulement la méthode standardisée n'a pas été suivie à la lettre mais en plus, les expériences étaient *in vitro*. Même si elles ont été effectuées dans des matrices environnementales, elles ne recréeront jamais parfaitement des conditions *in situ*, l'environnement étant beaucoup trop complexe pour qu'on puisse y extrapoler des résultats aussi facilement. Néanmoins, les données offrent une bonne idée de l'ampleur des processus de dégradation chimique en eaux de surface et des processus de dégradation chimique et biologique dans les effluents de décanteur d'eau usée.

Plusieurs pistes seraient intéressantes à explorer pour un projet qui ferait suite à celui-ci. La dégradation biologique des neufs contaminants à l'étude dans des eaux de surface n'a pas été traitée dans le cadre de ce projet. De plus, elle n'a pas été étudiée de façon approfondie dans la littérature et les données disponibles varient énormément selon les conditions et le type d'eau à l'étude. Il serait donc intéressant de s'y attarder prochainement. Comme nos résultats ont démontré que les composés qui étaient aptes à la dégradation biologique se dégradent lentement dans un milieu chargé comme l'effluent municipal d'un décanteur primaire, il ne serait pas nécessaire d'effectuer des mesures à une fréquence aussi élevée pour des eaux de surface, biologiquement moins chargées. Cela permettrait à l'étudiant de mesurer le phénomène sur plusieurs sources. Ainsi, il pourrait s'attarder à la variation de la vitesse de dégradation biologique selon la composition de l'eau. Dans ce contexte, quantifier les échantillons d'eaux dans le temps avec la chromatographie liquide couplée au spectromètre de masse en tandem pourrait être considérée. La technique a un temps d'analyse plus long mais de meilleures limites de détection. L'expérience pourrait donc être réalisée en dopant les eaux à des concentrations en contaminants émergents encore plus réalistes.

Il serait intéressant de se pencher sur la question de l'inhibition biologique des échantillons de contrôle. Stériliser les eaux à l'autoclave et s'assurer de travailler dans des conditions stériles tout au long des cinétiques serait peut-être plus approprié que d'ajouter un biocide dans le milieu, quitte à altérer l'état naturel de la matrice à l'étude.

Références

1. Boisvert, M., P.B. Fayad, and S. Sauvé, *Development of a new multi-residue laser diode thermal desorption atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry method for the detection and quantification of pesticides and pharmaceuticals in wastewater samples*. *Analytica Chimica Acta*, 2012. **754**: p. 75-82.
2. Bhandari, A., R.Y. Surampalli, C.D. Adams, P. Champagne, S.K. Ong, R.D. Tyagi, and T. Zhang, *Contaminants of Emerging Environmental Concern*, 2009: American Society of Civil Engineers.
3. Barceló, D. and M. Petrovic, *Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste: Occurrence, Analysis and Effects*, 2008: Springer.
4. Vajda, A.M., L.B. Barber, J.L. Gray, E.M. Lopez, J.D. Woodling, and D.O. Norris, *Reproductive disruption in fish downstream from an estrogenic wastewater effluent*. *Environmental Science & Technology*, 2008. **42**(9): p. 3407-3414.
5. Zuchora-Walske, C., *Antibiotics*, 2013: ABDO Publishing Company.
6. United States Food and Drug Administration, *Guidance for Industry #213*, 2013, U.S. Department of Health and Human Services, : Rockville.
7. Kemper, N., *Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment*. *Ecological Indicators*, 2008. **8**(1): p. 1-13.
8. Barceló, D. and A. Alastuey, *Emerging Organic Contaminants and Human Health*. 1st ed 2012: Springer.
9. Daughton, C.G. and T.A. Ternes, *Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change?* *Environmental Health Perspectives*, 1999. **107**(Suppl 6): p. 907.
10. Krieger, R., *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, 2010: Elsevier Science.
11. Solomon, K.R., D.B. Baker, R.P. Richards, K.R. Dixon, S.J. Klaine, T.W. La Point, R.J. Kendall, C.P. Weisskopf, J.M. Giddings, J.P. Giesy, L.W. Hall, and W.M. Williams, *Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1996. **15**(1): p. 31-76.
12. United States Environmental Protection Agency. *Pesticides; Topical and chemical fact sheets - Atrazine Background*. 2013 [cited 2014 September 18]; Available from: http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/atrazine_background.htm.
13. United States Environmental Protection Agency. *Pesticides Reregistration; Atrazine Updates*. 2013 [cited 2014 September 18]; Available from: http://www.epa.gov/pesticides/reregistration/atrazine/atrazine_update.htm.
14. Geller, A., *Studies on the degradation of atrazine by bacterial communities enriched from various biotopes*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1980. **9**(3): p. 289-305.
15. Buser, H.R., *Atrazine and other s-triazine herbicides in lakes and in rain in Switzerland*. *Environmental Science & Technology*, 1990. **24**(7): p. 1049-1058.
16. Viglino, L., K. Aboufadi, A.D. Mahvelat, M. Prevost, and S. Sauvé, *On-line solid phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry to quantify pharmaceuticals, pesticides and some metabolites in wastewaters, drinking, and surface waters*. *Journal of Environmental Monitoring*, 2008. **10**(4).
17. Garcia-Ac, A., P.A. Segura, L. Viglino, A. Fürtös, C. Gagnon, M. Prévost, and S. Sauvé, *On-line solid-phase extraction of large-volume injections coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the quantitation and confirmation of 14 selected trace organic contaminants in drinking and surface water*. *Journal of Chromatography A*, 2009. **1216**(48): p. 8518-8527.
18. Ying, G.-G. and R.S. Kookana, *Degradation of five selected endocrine-disrupting chemicals in seawater and marine sediment*. *Environmental Science & Technology*, 2003. **37**(7): p. 1256-1260.
19. Johnson, A.C., A. Belfroid, and A. Di Corcia, *Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent*. *Science of the Total Environment*, 2000. **256**(2): p. 163-173.
20. Ternes, T.A., M. Stumpf, J. Mueller, K. Haberer, R.D. Wilken, and M. Servos, *Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants—I. Investigations in Germany, Canada and Brazil*. *Science of the Total Environment*, 1999. **225**(1): p. 81-90.
21. Fan, Z., S. Wu, H. Chang, and J. Hu, *Behaviors of glucocorticoids, androgens and progestogens in a municipal sewage treatment plant: Comparison to estrogens*. *Environmental Science & Technology*, 2011. **45**(7): p. 2725-2733.
22. Liu, S., G.-G. Ying, J.-L. Zhao, L.-J. Zhou, B. Yang, Z.-F. Chen, and H.-J. Lai, *Occurrence and fate of androgens, estrogens, glucocorticoids and progestagens in two different types of*

- municipal wastewater treatment plants*. Journal of Environmental Monitoring, 2012. **14**(2): p. 482-491.
23. Chang, H., Y. Wan, S. Wu, Z. Fan, and J. Hu, *Occurrence of androgens and progestogens in wastewater treatment plants and receiving river waters: Comparison to estrogens*. Water Research, 2011. **45**(2): p. 732-740.
 24. Chang, H., S. Wu, J. Hu, M. Asami, and S. Kunikane, *Trace analysis of androgens and progestogens in environmental waters by ultra-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2008. **1195**(1–2): p. 44-51.
 25. Viglino, L., K. Aboufadi, M. Prévost, and S. Sauvé, *Analysis of natural and synthetic estrogenic endocrine disruptors in environmental waters using online preconcentration coupled with LC-APPI-MS/MS*. Talanta, 2008. **76**(5): p. 1088-1096.
 26. Williams, R.J., M.D. Jürgens, and A.C. Johnson, *Initial predictions of the concentrations and distribution of 17 β -oestradiol, oestrone and ethinyl oestradiol in 3 English rivers*. Water Research, 1999. **33**(7): p. 1663-1671.
 27. Jürgens, M.D., K.I.E. Holthaus, A.C. Johnson, J.J.L. Smith, M. Hetheridge, and R.J. Williams, *The potential for estradiol and ethinylestradiol degradation in English rivers*. Environmental Toxicology and Chemistry, 2002. **21**(3): p. 480-488.
 28. D'Ascenzo, G., A. Di Corcia, A. Gentili, R. Mancini, R. Mastropasqua, M. Nazzari, and R. Samperi, *Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities*. Science of the Total Environment, 2003. **302**(1–3): p. 199-209.
 29. Weber, S., P. Leuschner, P. Kämpfer, W. Dott, and J. Hollender, *Degradation of estradiol and ethinyl estradiol by activated sludge and by a defined mixed culture*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2005. **67**(1): p. 106-112.
 30. Heberer, T., *Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: A review of recent research data*. Toxicology Letters, 2002. **131**(1–2): p. 5-17.
 31. Fernandez, M.P., M.G. Ikonomou, and I. Buchanan, *An assessment of estrogenic organic contaminants in Canadian wastewaters*. Science of the Total Environment, 2007. **373**(1): p. 250-269.
 32. Kuch, H.M. and K. Ballschmiter, *Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range*. Environmental Science & Technology, 2001. **35**(15): p. 3201-3206.
 33. Benotti, M.J., R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, B.D. Stanford, and S.A. Snyder, *Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in US drinking water*. Environmental Science & Technology, 2008. **43**(3): p. 597-603.
 34. Sun, L., W. Yong, X. Chu, and J.-M. Lin, *Simultaneous determination of 15 steroidal oral contraceptives in water using solid-phase disk extraction followed by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2009. **1216**(28): p. 5416-5423.
 35. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, *Combined estrogen-progestogen contraceptives and combined estrogen-progestogen menopausal therapy*, 2007: International Agency for Research on Cancer.
 36. Runnalls, T.J., L. Margiotta-Casaluci, S. Kugathas, and J.P. Sumpter, *Pharmaceuticals in the aquatic environment: Steroids and anti-steroids as high priorities for research*. Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal, 2010. **16**(6): p. 1318-1338.
 37. Vulliet, E., C. Cren-Olivé, and M.-F. Grenier-Loustalot, *Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters*. Environmental Chemistry Letters, 2011. **9**(1): p. 103-114.
 38. Chen, M., K. Ohman, C. Metcalfe, M.G. Ikonomou, P.L. Amatya, and J. Wilson, *Pharmaceuticals and endocrine disruptors in wastewater treatment effluents and in the water supply system of Calgary, Alberta, Canada*. Water Quality Research Journal of Canada, 2006. **41**(4): p. 351-364.
 39. Labadie, P. and H. Budzinski, *Development of an analytical procedure for determination of selected estrogens and progestagens in water samples*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2005. **381**(6): p. 1199-1205.
 40. Collier, A.C., *Pharmaceutical contaminants in potable water: potential concerns for pregnant women and children*. EcoHealth, 2007. **4**(2): p. 164-171.
 41. Segura, P.A., S.L. MacLeod, P. Lemoine, S. Sauvé, and C. Gagnon, *Quantification of carbamazepine and atrazine and screening of suspect organic contaminants in surface and drinking waters*. Chemosphere, 2011. **84**(8): p. 1085-1094.

42. Radjenović, J., M. Petrović, and D. Barceló, *Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment*. Water Research, 2009. **43**(3): p. 831-841.
43. Ternes, T.A., *Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers*. Water Research, 1998. **32**(11): p. 3245-3260.
44. Metcalfe, C.D., X.-S. Miao, B.G. Koenig, and J. Struger, *Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower Great Lakes, Canada*. Environmental Toxicology and Chemistry, 2003. **22**(12): p. 2881-2889.
45. Zhang, Y., S.-U. Geißen, and C. Gal, *Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies*. Chemosphere, 2008. **73**(8): p. 1151-1161.
46. Maisto, S., M. Galizio, and G. Connors, *Drug Use and Abuse*, 2010: Cengage Learning.
47. Nehlig, A., *Are we dependent upon coffee and caffeine? A review on human and animal data*. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 1999. **23**(4): p. 563-576.
48. Axelrod, J. and J. Reichenenthal, *The fate of caffeine in man and a method for its estimation in biological material*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 1953. **107**(4): p. 519-523.
49. Fredholm, B.B., *Methylxanthines*, 2010: Springer.
50. Lorist, M. and J. Snel, *Nicotine, caffeine and social drinking: Behaviour and brain function*, 2013: Taylor & Francis.
51. Tang-Liu, D.D., R.L. Williams, and S. Riegelman, *Disposition of caffeine and its metabolites in man*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 1983. **224**(1): p. 180-185.
52. Buerge, I.J., T. Poiger, M.D. Müller, and H.-R. Buser, *Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters*. Environmental Science & Technology, 2003. **37**(4): p. 691-700.
53. Kolpin, D.W., E.T. Furlong, M.T. Meyer, E.M. Thurman, S.D. Zaugg, L.B. Barber, and H.T. Buxton, *Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance*. Environmental Science & Technology, 2002. **36**(6): p. 1202-1211.
54. Choi, K., Y. Kim, J. Park, C.K. Park, M. Kim, H.S. Kim, and P. Kim, *Seasonal variations of several pharmaceutical residues in surface water and sewage treatment plants of Han River, Korea*. Science of the Total Environment, 2008. **405**(1): p. 120-128.
55. Gagné, F., C. Blaise, and C. André, *Occurrence of pharmaceutical products in a municipal effluent and toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2006. **64**(3): p. 329-336.
56. Quinn, B., F. Gagné, and C. Blaise, *An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata**. Science of the Total Environment, 2008. **389**(2-3): p. 306-314.
57. Yalkowsky, S.H., *Handbook of Aqueous Solubility Data*, ed. S.H. Yalkowsky. Vol. 1st ed. 2003: CRC Press.
58. Hansch, C., A. Leo, D. Hoekman, and S.R. Heller, *Exploring Qsar*, ed. C. Hansch, et al. Vol. 1. 1995: American Chemical Society: Washington, DC.
59. Xu, B., D. Mao, Y. Luo, and L. Xu, *Sulfamethoxazole biodegradation and biotransformation in the water-sediment system of a natural river*. Bioresource Technology, 2011. **102**(14): p. 7069-7076.
60. Hirsch, R., T. Ternes, K. Haberer, and K.-L. Kratz, *Occurrence of antibiotics in the aquatic environment*. Science of the Total Environment, 1999. **225**(1-2): p. 109-118.
61. Roberts, P.H. and K.V. Thomas, *The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment*. Science of the Total Environment, 2006. **356**(1): p. 143-153.
62. Christian, T., R.J. Schneider, H.A. Färber, D. Skutlarek, M.T. Meyer, and H.E. Goldbach, *Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters*. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 2003. **31**(1): p. 36-44.
63. Hartig, C., T. Storm, and M. Jekel, *Detection and identification of sulphonamide drugs in municipal waste water by liquid chromatography coupled with electrospray ionisation tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 1999. **854**(1-2): p. 163-173.
64. Hilton, M.J. and K.V. Thomas, *Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2003. **1015**(1): p. 129-141.
65. Singer, H., S. Jaus, I. Hanke, A. Lück, J. Hollender, and A.C. Alder, *Determination of biocides and pesticides by on-line solid phase extraction coupled with mass spectrometry and their behaviour in wastewater and surface water*. Environmental Pollution, 2010. **158**(10): p. 3054-3064.

66. Crane, M., C. Watts, and T. Boucard, *Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals*. Science of the Total Environment, 2006. **367**(1): p. 23-41.
67. Tixier, C., H.P. Singer, S. Oellers, and S.R. Müller, *Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters*. Environmental Science & Technology, 2003. **37**(6): p. 1061-1068.
68. Wiegel, S., A. Aulinger, R. Brockmeyer, H. Harms, J. Löffler, H. Reincke, R. Schmidt, B. Stachel, W. Von Tümpling, and A. Wanke, *Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries*. Chemosphere, 2004. **57**(2): p. 107-126.
69. Stumpf, M., T.A. Ternes, R.-D. Wilken, R. Silvana Vianna, and W. Baumann, *Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil*. Science of the Total Environment, 1999. **225**(1-2): p. 135-141.
70. Öllers, S., H.P. Singer, P. Fässler, and S.R. Müller, *Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water*. Journal of Chromatography A, 2001. **911**(2): p. 225-234.
71. Oaks, J.L., M. Gilbert, M.Z. Virani, R.T. Watson, C.U. Meteyer, B.A. Rideout, H.L. Shivaprasad, S. Ahmed, M.J. Iqbal Chaudhry, M. Arshad, S. Mahmood, A. Ali, et al., *Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan*. Nature, 2004. **427**(6975): p. 630-633.
72. Shapir, N. and R.T. Mandelbaum, *Atrazine degradation in subsurface soil by indigenous and introduced microorganisms*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997. **45**(11): p. 4481-4486.
73. Armstrong, D.E., G. Chesters, and R.F. Harris, *Atrazine hydrolysis in soil*. Soil Science Society of America Journal, 1967. **31**(1): p. 61-66.
74. Skipper, H.D. and V.V. Volk, *Biological and chemical degradation of atrazine in three Oregon soils*. Weed Science, 1972. **20**(4): p. 344-347.
75. Blumhorst, M.R. and J.B. Weber, *Chemical versus microbial degradation of cyanazine and atrazine in soils*. Pesticide Science, 1994. **42**(2): p. 79-84.
76. Abdelhafid, R., S. Houot, and E. Barriuso, *Dependence of atrazine degradation on C and N availability in adapted and non-adapted soils*. Soil Biology and Biochemistry, 2000. **32**(3): p. 389-401.
77. Erickson, L.E., K.H. Lee, and D.D. Sumner, *Degradation of atrazine and related s-triazines*. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 1989. **19**(1): p. 1-14.
78. National Registration Authority for Agricultural and Veterinary Chemicals, *The NRA Review of Atrazine: Review Summary*, ed. NRA 1997: NRA: Canberra.
79. Canard, S., *Devenir de l'atrazine dans l'environnement: Étude bibliographique*, ed. École Nationale Vétérinaire de Toulouse 2003: ENVT: Toulouse. 63.
80. Boreen, A.L., W.A. Arnold, and K. McNeill, *Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environment: A review*. Aquatic Sciences, 2003. **65**(4): p. 320-341.
81. Holthaus, K.I.E., A.C. Johnson, M.D. Jürgens, R.J. Williams, J.J.L. Smith, and J.E. Carter, *The potential for estradiol and ethinylestradiol to sorb to suspended and bed sediments in some English rivers*. Environmental Toxicology and Chemistry, 2002. **21**(12): p. 2526-2535.
82. Matsuoka, S., M. Kikuchi, S. Kimura, Y. Kurokawa, and S.i. Kawai, *Determination of estrogenic substances in the water of Muko River using in vitro assays, and the degradation of natural estrogens by aquatic bacteria*. Journal of Health Science, 2005. **51**(2): p. 178-184.
83. Meylan, W.M. and P.H. Howard, *Bond contribution method for estimating Henry's law constants*. Environmental Toxicology and Chemistry, 1991. **10**(10): p. 1283-1293.
84. Andreozzi, R., R. Marotta, G. Pinto, and A. Pollio, *Carbamazepine in water: persistence in the environment, ozonation treatment and preliminary assessment on algal toxicity*. Water Research, 2002. **36**(11): p. 2869-2877.
85. Benotti, M.J. and B.J. Brownawell, *Microbial degradation of pharmaceuticals in estuarine and coastal seawater*. Environmental Pollution, 2009. **157**(3): p. 994-1002.
86. Clara, M., B. Strenn, and N. Kreuzinger, *Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration*. Water Research, 2004. **38**(4): p. 947-954.
87. Lam, M.W., C.J. Young, R.A. Brain, D.J. Johnson, M.A. Hanson, C.J. Wilson, S.M. Richards, K.R. Solomon, and S.A. Mabury, *Aquatic persistence of eight pharmaceuticals in a microcosm study*. Environmental Toxicology and Chemistry, 2004. **23**(6): p. 1431-1440.
88. Löffler, D., J. Römbke, M. Meller, and T.A. Ternes, *Environmental fate of pharmaceuticals in water/sediment systems*. Environmental Science & Technology, 2005. **39**(14): p. 5209-5218.
89. Bradley, P.M., L.B. Barber, D.W. Kolpin, P.B. McMahon, and F.H. Chapelle, *Biotransformation of caffeine, cotinine, and nicotine in stream sediments: Implications for use as wastewater indicators*. Environmental Toxicology and Chemistry, 2007. **26**(6): p. 1116-1121.

90. Pérez, S., P. Eichhorn, and D.S. Aga, *Evaluating the biodegradability of sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole, and trimethoprim at different stages of sewage treatment*. Environmental Toxicology and Chemistry, 2005. **24**(6): p. 1361-1367.
91. Andreozzi, R., M. Raffaele, and P. Nicklas, *Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment*. Chemosphere, 2003. **50**(10): p. 1319-1330.
92. Lai, H.-T. and J.-H. Hou, *Light and microbial effects on the transformation of four sulfonamides in eel pond water and sediment*. Aquaculture, 2008. **283**(1): p. 50-55.
93. Richardson, S.D. and T.A. Ternes, *Water analysis: Emerging contaminants and current issues*. Analytical Chemistry, 2005. **77**(12): p. 3807-3838.
94. Ferrer, I. and E.M. Thurman, *Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry*, 2009: Wiley.
95. , *High-throughput quantitation of seven sulfonamide residues in dairy milk using laser diode thermal desorption-negative mode atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010. **58**(3): p. 1442-1446.
96. , *Laser diode thermal desorption/Atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry analysis of selected steroid hormones in wastewater: Method optimization and application*. Analytical Chemistry, 2009. **82**(2): p. 639-645.
97. Viglino, L., M. Prevost, and S. Sauvé, *High throughput analysis of solid-bound endocrine disruptors by LDTD-APCI-MS/MS*. Journal of Environmental Monitoring, 2011. **13**(3).
98. Swales, J.G., R. Gallagher, and R.M. Peter, *Determination of metformin in mouse, rat, dog and human plasma samples by laser diode thermal desorption/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010. **53**(3): p. 740-744.
99. De Hoffmann, E. and V. Stroobant, *Spectrométrie de Masse: Cours et exercices corrigés*, 2005: Dunod.
100. Pagga, U., *Testing biodegradability with standardized methods*. Chemosphere, 1997. **35**(12): p. 2953-2972.
101. OECD, *Revised Introduction to the OECD Guidelines for Testing of Chemicals, Section 3*, 2008: OECD Publishing.
102. Raymond, J.W., T.N. Rogers, D.R. Shonnard, and A.A. Kline, *A review of structure-based biodegradation estimation methods*. Journal of Hazardous Materials, 2001. **84**(2-3): p. 189.
103. OECD, *Test No. 301: Ready Biodegradability*, 1992: OECD Publishing.
104. OECD, *Test No. 302A: Inherent Biodegradability: Modified SCAS Test*, 1981: OECD Publishing.
105. OECD, *Test No. 302B: Inherent Biodegradability: Zahn-Wellens/ EVPA Test*, 1992: OECD Publishing.
106. OECD, *Test No. 302C: Inherent Biodegradability: Modified MITI Test (II)*, 2009: OECD Publishing.
107. OECD, *Test No. 309: Aerobic Mineralisation in Surface Water – Simulation Biodegradation Test*, 2004: OECD Publishing.
108. Vazquez, G., E. Alvarez, and J.M. Navaza, *Surface tension of alcohol water + water from 20 to 50 .degree.C*. Journal of Chemical & Engineering Data, 1995. **40**(3): p. 611-614.
109. Boisvert, M., *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*, in *Département de Chimie2012*, Université de Montréal: Montréal.
110. Kabara, J.J., *Preservative-Free and Self-Preserving Cosmetics and Drugs: Principles and Practices*, 1997: Taylor & Francis.
111. Vanderford, B., D. Mawhinney, R. Trenholm, J. Zeigler-Holady, and S. Snyder, *Assessment of sample preservation techniques for pharmaceuticals, personal care products, and steroids in surface and drinking water*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011. **399**(6): p. 2227-2234.
112. Sigma-Aldrich. *Dimethyldichlorosilane product information sheet*. 1996 [cited 2012 March 3]; Available from: http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/d3879pis.pdf.
113. Crissman, J. *Deactivating Glass Surfaces with Dimethyldichlorosilane (DMDCS)*. Restek 2004 [cited 2014 February, 13]; Available from: http://www.restek.com/pdfs/adv_2004_02_08.pdf.
114. United States Department of the Interior - United States Geological Survey. *Water properties: Dissolved oxygen*. 2013 [cited 2014 January 6]; Available from: <http://ga.water.usgs.gov/edu/dissolvedoxygen.html>.

115. YSI Incorporated, *The Dissolved Oxygen Handbook: a practical guide to dissolved oxygen measurements*, in W39 09092009.
116. Meyer, A., J. Deiana, and A. Bernard, *Cours de Microbiologie Générale: avec problèmes et exercices corrigés*. Vol. 2nd ed. 2004: Doin Editions.
117. Missika, P. and G. Drouhet, *Hygiène, Asepsie, Ergonomie: Un Défi Permanent*, 2001: CdP.
118. Yousef, Y.A., Municipal Environmental Research Laboratory, and University of Central Florida, *Urban stormwater and combined sewer overflow impact on receiving water bodies: proceedings of the national conference, Orlando, Florida November 26-28, 1979*, 1980: Municipal Environmental Research Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency.
119. Coté, R.J., *Current Protocols in Cell Biology*, in *Current Protocols in Cell Biology* 2001, John Wiley & Sons, Inc.
120. Csuros, M., *Microbiological Examination of Water and Wastewater*, 1999: Taylor & Francis.
121. da Silva, N., M.H. Taniwaki, V.C. Junqueira, N. Silveira, M. da Silva do Nascimento, and R.A.R. Gomes, *Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory Manual*, 2012: Taylor & Francis.
122. McDonnell, G. and A.D. Russell, *Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance*. *Clinical microbiology reviews*, 1999. **12**(1): p. 147-179.
123. Baczynski, T.P., D. Pleissner, and T. Grotenhuis, *Anaerobic biodegradation of organochlorine pesticides in contaminated soil – Significance of temperature and availability*. *Chemosphere*, 2010. **78**(1): p. 22-28.
124. Rutkowska, M., K. Krasowska, A. Heimowska, I. Steinka, and H. Janik, *Degradation of polyurethanes in sea water*. *Polymer Degradation and Stability*, 2002. **76**(2): p. 233-239.
125. Yi, T. and W.F. Harper Jr, *The effect of biomass characteristics on the partitioning and sorption hysteresis of 17 α -ethinylestradiol*. *Water Research*, 2007. **41**(7): p. 1543-1553.
126. Yang, S.-F., C.-F. Lin, A. Yu-Chen Lin, and P.-K. Andy Hong, *Sorption and biodegradation of sulfonamide antibiotics by activated sludge: Experimental assessment using batch data obtained under aerobic conditions*. *Water Research*, 2011. **45**(11): p. 3389-3397.
127. Liu, Y.-S., G.-G. Ying, A. Shareef, and R.S. Kookana, *Biodegradation of three selected benzotriazoles under aerobic and anaerobic conditions*. *Water Research*, 2011. **45**(16): p. 5005-5014.
128. Ro, K.S., K.H. Chung, and J.W. Robinson, *Chemical transformation of atrazine with sodium azide*. *Journal of Environmental Science and Health . Part A: Environmental Science and Engineering and Toxicology*, 1995. **30**(2): p. 321-332.
129. Pepper, I.L., C.P. Gerba, T.J. Gentry, and R.M. Maier, *Environmental Microbiology*, ed. I.L. Pepper, et al. Vol. 2nd ed. 2011: Elsevier Science.
130. Lin, Y.-S.E., R.D. Vidic, J.E. Stout, and V.L. Yu, *Individual and combined effects of copper and silver ions on inactivation of Legionella pneumophila*. *Water Research*, 1996. **30**(8): p. 1905-1913.
131. Rai, M., A. Yadav, and A. Gade, *Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials*. *Biotechnology Advances*, 2009. **27**(1): p. 76-83.
132. Khassanova, L., L.K.I.M.J.C.É.P.C. Russie Symposium international sur les ions métalliques en biologie et en médecine 07 Saint-Petersbourg, and P. Collery, *Metal Ions in Biology and Medicine*, 2002: John Libbey.
133. Hamelink, J., P.F. Landrum, H. Bergman, and W.H. Benson, *Bioavailability: Physical, Chemical, and Biological Interactions*, 1994: Taylor & Francis.
134. Stauber, J. and C. Davies, *Use and limitations of microbial bioassays for assessing copper bioavailability in the aquatic environment*. *Environmental Reviews*, 2000. **8**(4): p. 255-301.
135. Choi, O., K.K. Deng, N.-J. Kim, L. Ross Jr, R.Y. Surampalli, and Z. Hu, *The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth*. *Water Research*, 2008. **42**(12): p. 3066-3074.
136. Filali, B.K., J. Taoufik, Y. Zeroual, F.Z. Dzairi, M. Talbi, and M. Blaghen, *Waste water bacterial isolates resistant to heavy metals and antibiotics*. *Current Microbiology*, 2000. **41**(3): p. 151-156.
137. Hassen, A., N. Saidi, M. Cherif, and A. Boudabous, *Resistance of environmental bacteria to heavy metals*. *Bioresource Technology*, 1998. **64**(1): p. 7-15.
138. Flemming, C.A. and J.T. Trevors, *Copper toxicity and chemistry in the environment: A review*. *Water, Air, and Soil Pollution*, 1989. **44**(1-2): p. 143-158.
139. Adams, N.W.H. and J.R. Kramer, *Silver speciation in wastewater effluent, surface waters, and pore waters*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1999. **18**(12): p. 2667-2673.
140. Sauvé, S., *CHM 3601 - Chimie environnementale*, in *Cours 4: Hydrosphère* 2010, Université de Montréal: Montréal.

141. Mason, R.P., *Trace Metals in Aquatic Systems*, 2013: Wiley.
142. Ney, R.E., *Fate and Transport of Organic Chemicals in the Environment: A Practical Guide*, ed. R.E. Ney. Vol. 3rd ed. 1998: Government Institutes.
143. Wick, A., O. Marincas, Z. Moldovan, and T.A. Ternes, *Sorption of biocides, triazine and phenylurea herbicides, and UV-filters onto secondary sludge*. *Water Research*, 2011. **45**(12): p. 3638-3652.
144. Lai, K.M., K.L. Johnson, M.D. Scrimshaw, and J.N. Lester, *Binding of waterborne steroid estrogens to solid phases in river and estuarine systems*. *Environmental Science & Technology*, 2000. **34**(18): p. 3890-3894.
145. Ding, C. and J. He, *Effect of antibiotics in the environment on microbial populations*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010. **87**(3): p. 925-941.
146. Neumann, G., R. Teras, L. Monson, M. Kivisaar, F. Schauer, and H.J. Heipieper, *Simultaneous degradation of atrazine and phenol by pseudomonas sp. strain ADP: Effects of toxicity and adaptation*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004. **70**(4): p. 1907-1912.
147. Ralston-Hooper, K., J. Hardy, L. Hahn, H. Ochoa-Acuña, L.S. Lee, R. Mollenhauer, and M.S. Sepúlveda, *Acute and chronic toxicity of atrazine and its metabolites deethylatrazine and deisopropylatrazine on aquatic organisms*. *Ecotoxicology*, 2009. **18**(7): p. 899-905.
148. Ferrari, B.t., N. Paxéus, R.L. Giudice, A. Pollio, and J. Garric, *Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibrac acid, and diclofenac*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2003. **55**(3): p. 359-370.
149. Al-Ahmad, A., F.D. Daschner, and K. Kümmerer, *Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G, and sulfamethoxazole and inhibition of waste water bacteria*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1999. **37**(2): p. 158-163.
150. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie*, in *DR-12-VMC*, MDDEP, Editor 2009: Québec.
151. Wadhvani, T., K. Desai, D. Patel, D. Lawani, P. Bahaley, P. Joshi, and V. Kothari, *Effect of various solvents on bacterial growth in context of determining MIC of various antimicrobials*. *The Internet Journal of Microbiology*, 2009. **7**(1).
152. Rice, E.W., L. Bridgewater, American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22 ed. American Public Health Association 2012, Washington: American Public Health Association. 1268.
153. McTigue, N.E. and J.M. Symons, *The Water Dictionary: A Comprehensive Reference of Water Terminology*, 2011: American Water Works Association.
154. Richards, R.M., H.A. Odelola, and B. Anderson, *Effect of silver on whole cells and spheroplasts of a silver resistant Pseudomonas aeruginosa*. *Microbios*, 1984. **39**(157-158): p. 151.
155. Battersby, N.S., *A review of biodegradation kinetics in the aquatic environment*. *Chemosphere*, 1990. **21**(10-11): p. 1243-1284.
156. Jones, T.W., W.M. Kemp, J.C. Stevenson, and J.C. Means, *Degradation of atrazine in estuarine water/sediment systems and soils*. *Journal of Environmental Quality*, 1982. **11**(4): p. 632-638.
157. Sauvé, S. and M. Desrosiers, *A review of what is an emerging contaminant*. *Chemistry Central Journal*, 2014. **8**(1): p. 1-7.
158. Ying, G.-G., R.S. Kookana, and Y.-J. Ru, *Occurrence and fate of hormone steroids in the environment*. *Environment International*, 2002. **28**(6): p. 545-551.
159. Kolpin, D.W., E.M. Thurman, and S.M. Linhart, *The environmental occurrence of herbicides: The importance of degradates in ground water*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1998. **35**(3): p. 385-390.
160. Esperanza, M., M.T. Suidan, R. Marfil-Vega, C. Gonzalez, G.A. Sorial, P. McCauley, and R. Brenner, *Fate of sex hormones in two pilot-scale municipal wastewater treatment plants: Conventional treatment*. *Chemosphere*, 2007. **66**(8): p. 1535-1544.
161. Loos, R., J. Wollgast, T. Huber, and G. Hanke, *Polar herbicides, pharmaceutical products, perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), and nonylphenol and its carboxylates and ethoxylates in surface and tap waters around Lake Maggiore in Northern Italy*. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2007. **387**(4): p. 1469-1478.
162. Rodriguez-Mozaz, S., M.J. López de Alda, and D. Barceló, *Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction-liquid chromatography-mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, 2004. **1045**(1): p. 85-92.
163. Dickerson, S.M. and A.C. Gore, *Estrogenic environmental endocrine-disrupting chemical effects on reproductive neuroendocrine function and dysfunction across the life cycle*. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2007. **8**(2): p. 143-159.

164. Drillia, P., S.N. Dokianakis, M.S. Fountoulakis, M. Kornaros, K. Stamatelatos, and G. Lyberatos, *On the occasional biodegradation of pharmaceuticals in the activated sludge process: the example of the antibiotic sulfamethoxazole*. Journal of Hazardous Materials, 2005. **122**(3): p. 259-265.
165. Bernhard, M., J. Müller, and T.P. Knepper, *Biodegradation of persistent polar pollutants in wastewater: comparison of an optimised lab-scale membrane bioreactor and activated sludge treatment*. Water Research, 2006. **40**(18): p. 3419-3428.
166. Lai, H.-T., T.-S. Wang, and C.-C. Chou, *Implication of light sources and microbial activities on degradation of sulfonamides in water and sediment from a marine shrimp pond*. Bioresource Technology, 2011. **102**(8): p. 5017-5023.
167. OECD, *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 3: Degradation and Accumulation Test No. 309: Aerobic Mineralisation in Surface Water – Simulation Biodegradation Test*, 2004: OECD Publishing.
168. Pugh, K.C., *Toxicity and physical properties of atrazine and its degradation products: a literature survey*, 1994, Tennessee Valley Authority, Muscle Shoals, AL (United States).
169. Ward, T.M. and J.B. Weber, *Aqueous solubility of alkylamino-s-triazine as a function of pH and molecular structure*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1968. **16**(6): p. 959-961.
170. Thurman, E.M., M.T. Meyer, M.S. Mills, L.R. Zimmerman, C.A. Perry, and D.A. Goolsby, *Formation and transport of deethylatrazine and deisopropylatrazine in surface water*. Environmental Science & Technology, 1994. **28**(13): p. 2267-2277.
171. Fini, A., M. Laus, I. Orienti, and V. Zecchi, *Dissolution and partition thermodynamic functions of some nonsteroidal anti-inflammatory drugs*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1986. **75**(1): p. 23-25.
172. Finizio, A., M. Vighi, and D. Sandroni, *Determination of n-octanol/water partition coefficient (Kow) of pesticide critical review and comparison of methods*. Chemosphere, 1997. **34**(1): p. 131-161.
173. McFarland, J.W., A. Avdeef, C.M. Berger, and O.A. Raevsky, *Estimating the water solubilities of crystalline compounds from their chemical structures alone*. Journal of Chemical Information and Computer Sciences, 2001. **41**(5): p. 1355-1359.
174. Tomlin, C.D.S., *A World Compendium: The Pesticide Manual*. Published by British Crop Protection Council, ed. C.D.S. Tomlin. Vol. 11th ed. 1997: British Crop Protection Council: Farnham, Surrey, UK.
175. Neely, W.B. and G.E. Blau, *Environmental exposure from chemicals*, ed. W.B. Neely and G.E. Blau. Vol. 1. 1985: CRC Press.
176. Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A.t. Rebers, and F. Smith, *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*. Analytical Chemistry, 1956. **28**(3): p. 350-356.
177. Simkins, S. and M. Alexander, *Models for mineralization kinetics with the variables of substrate concentration and population density*. Applied and Environmental Microbiology, 1984. **47**(6): p. 1299-1306.
178. Ghosh, P.K. and L. Philip, *Environmental significance of atrazine in aqueous systems and its removal by biological processes: An overview*. Global NEST Journal, 2006. **8**(2): p. 159-178.
179. Lewis, D.L., H.P. Kollig, and R.E. Hodson, *Nutrient limitation and adaptation of microbial populations to chemical transformations*. Applied and Environmental Microbiology, 1986. **51**(3): p. 598-603.
180. Spain, J.C. and P.A. Van Veld, *Adaptation of natural microbial communities to degradation of xenobiotic compounds: Effects of concentration, exposure time, inoculum, and chemical structure*. Applied and Environmental Microbiology, 1983. **45**(2): p. 428-435.
181. Aherne, G.W. and R. Briggs, *The relevance of the presence of certain synthetic steroids in the aquatic environment*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1989. **41**(10): p. 735-736.
182. Belfroid, A.C., A. Van der Horst, A.D. Vethaak, A.J. Schäfer, G.B.J. Rijs, J. Wegener, and W.P. Cofino, *Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands*. Science of the Total Environment, 1999. **225**(1): p. 101-108.
183. Snyder, S.A., T.L. Keith, D.A. Verbrugge, E.M. Snyder, T.S. Gross, K. Kannan, and J.P. Giesy, *Analytical methods for detection of selected estrogenic compounds in aqueous mixtures*. Environmental Science & Technology, 1999. **33**(16): p. 2814-2820.
184. Jux, U., R.M. Baginski, H.-G. Arnold, M. Krönke, and P.N. Seng, *Detection of pharmaceutical contaminations of river, pond, and tap water from Cologne (Germany) and surroundings*. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2002. **205**(5): p. 393-398.
185. Aboufadel, K., C. De Potter, M. Prévost, and S. Sauvé, *Research article time-dependent integrity during storage of natural surface water samples for the trace analysis of pharmaceutical products, feminizing hormones and pesticides*. Chemistry Central Journal, 2010. **4**: p. 1-8.

186. Lee, H.B. and D. Liu, *Degradation of 17 β -estradiol and its metabolites by sewage bacteria*. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2002. **134**(1): p. 351-366.
187. Jürgens, M.D., Williams, R. J. and Johnson, A. C, *Fate and behaviour potential of steroid estrogens in rivers: a scoping study*, 1999: Institute of Hydrology. 80.

Annexe B

Résultats des cinétiques de l'expérience I

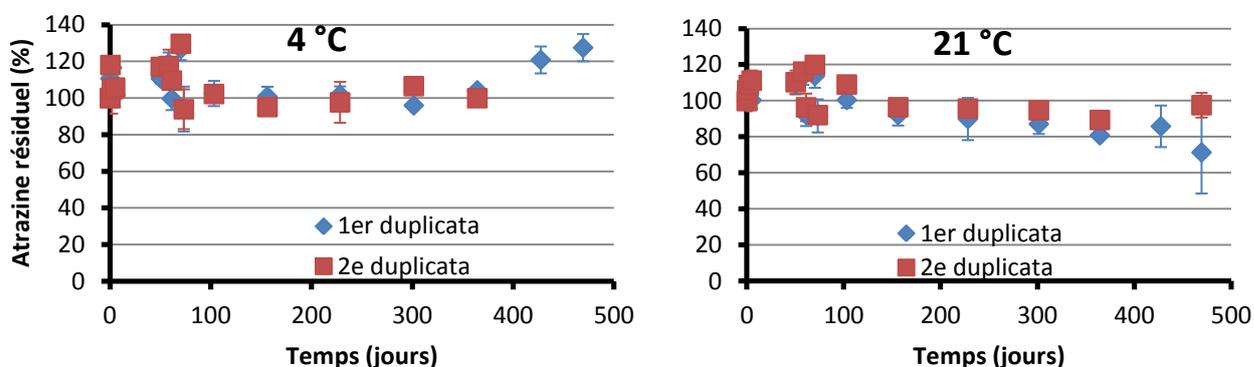


Figure B.1 Atrazine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

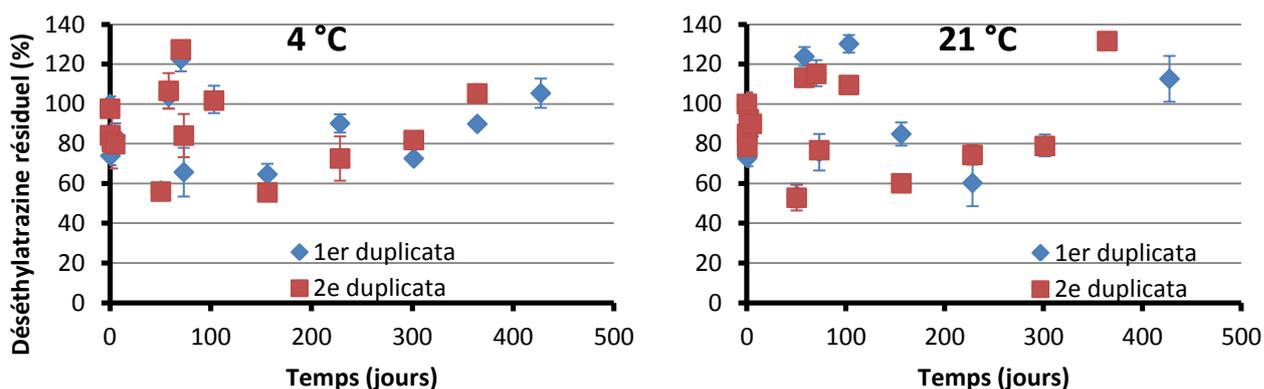


Figure B.2 Déséthylatrazine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

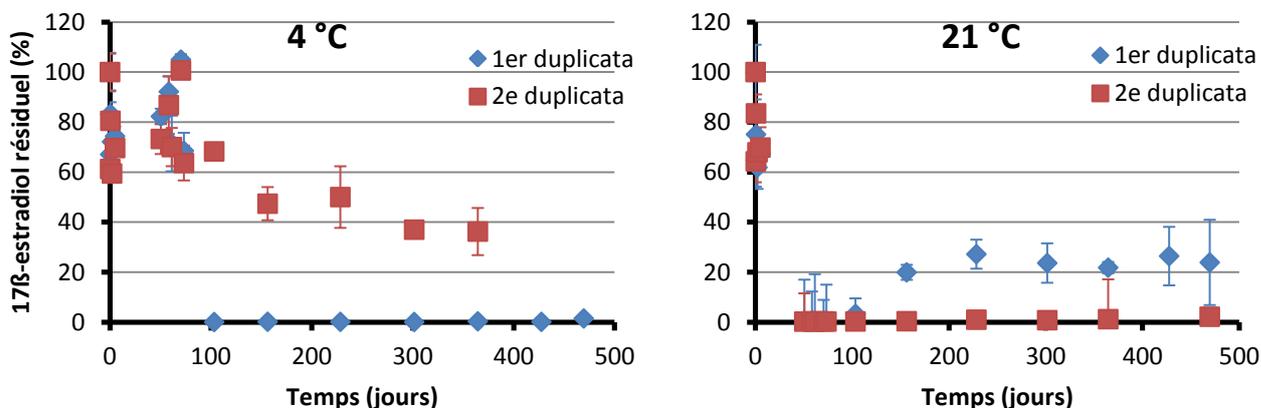


Figure B.3 17 β -estradiol résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

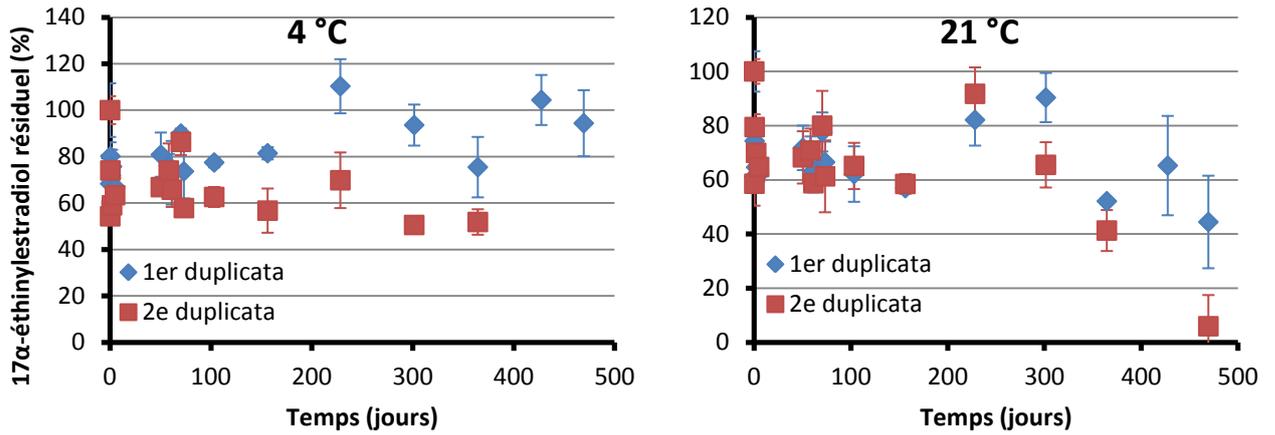


Figure B.4 17 α -éthinyloestradiol résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

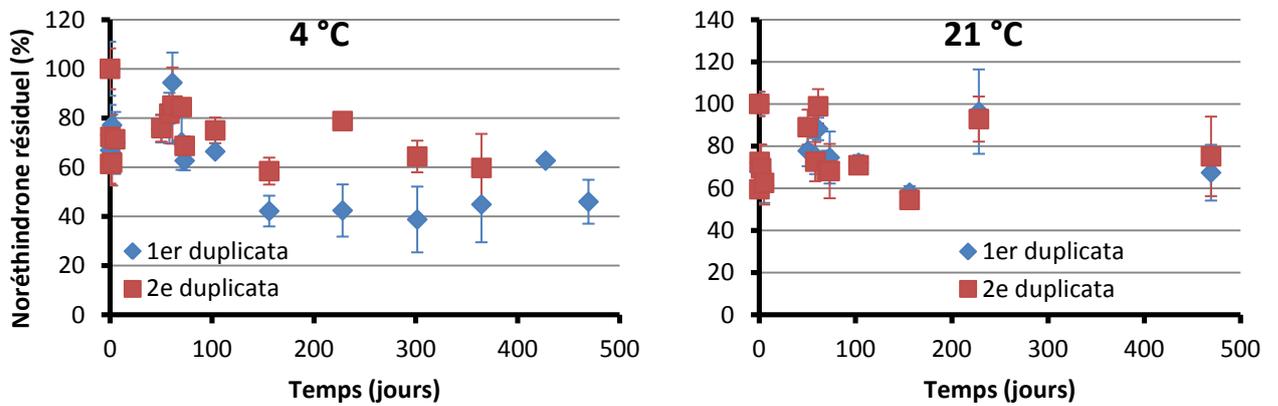


Figure B.5 Noréthindrone résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

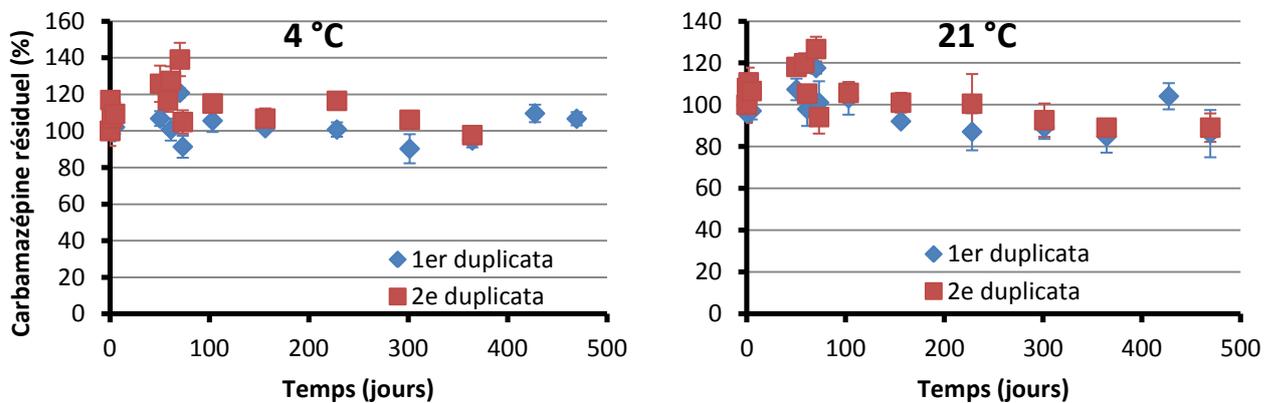


Figure B.6 Carbamazépine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

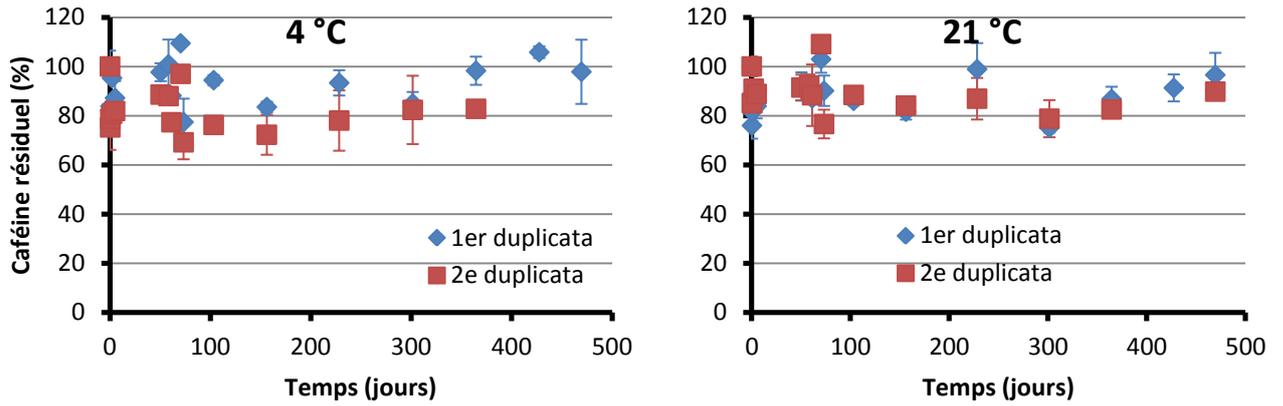


Figure B.7 Caféine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

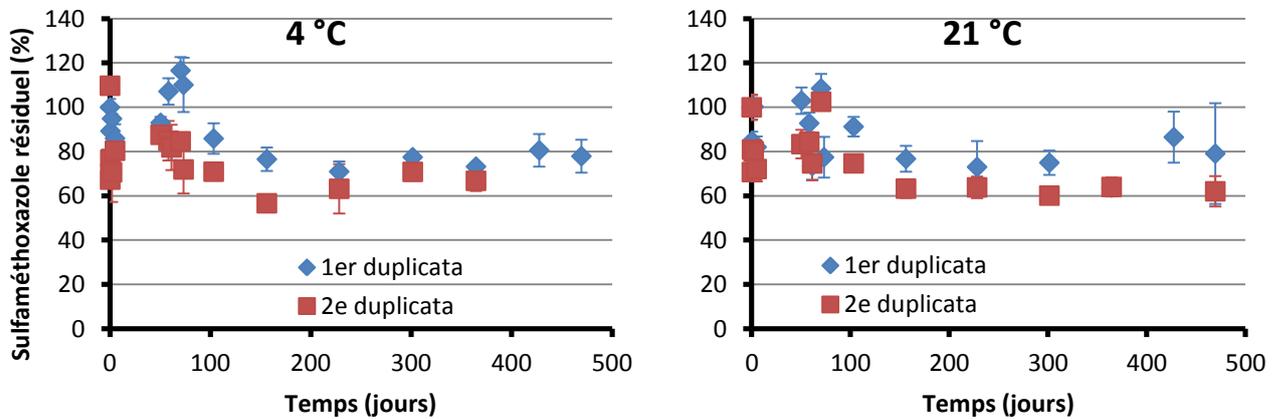


Figure B.8 Sulfaméthoxazole (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

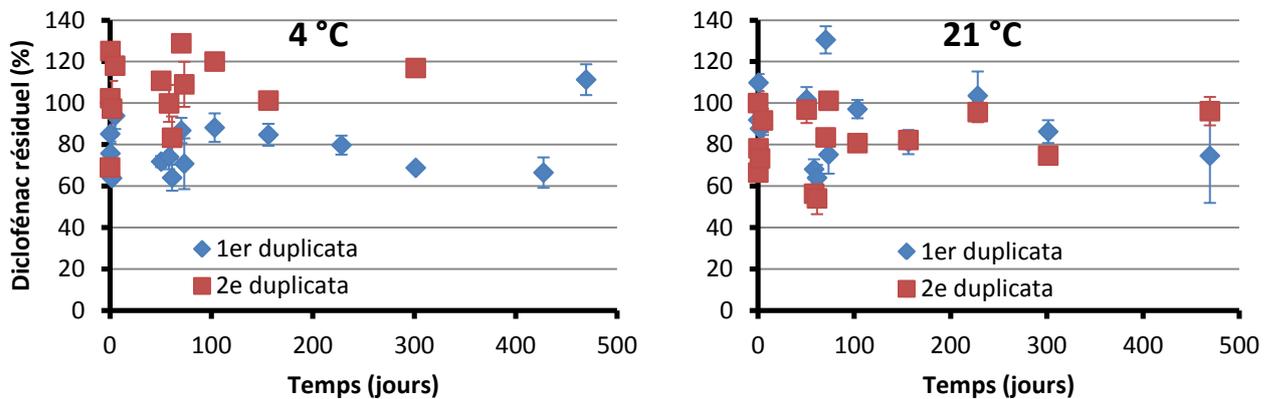


Figure B.9 Diclofénac résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

Résultats des cinétiques de l'expérience II

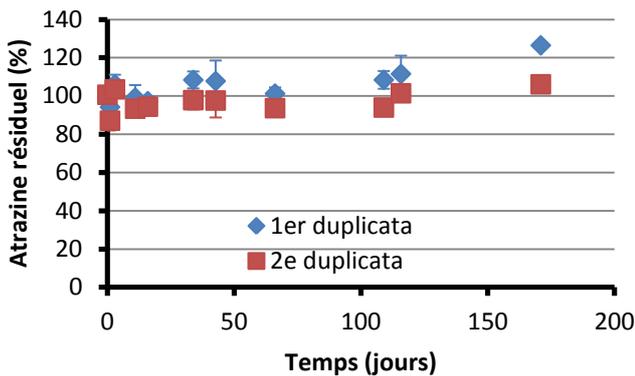


Figure B.10 Atrazine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

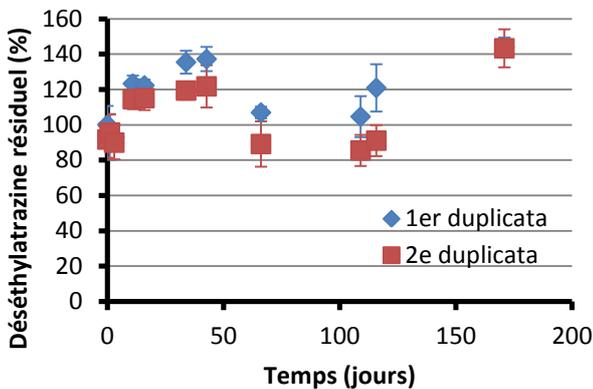


Figure B.11 Déséthylatrazine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

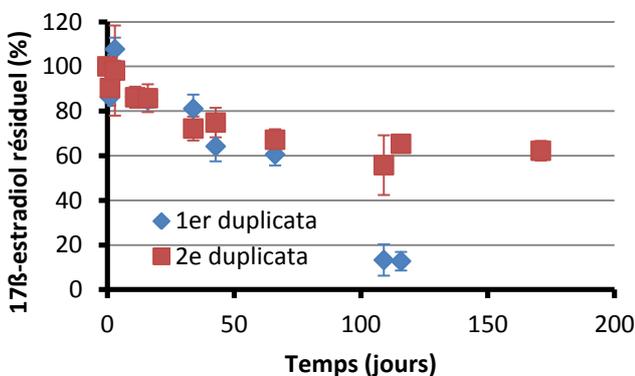


Figure B.12 17 β -estradiol résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

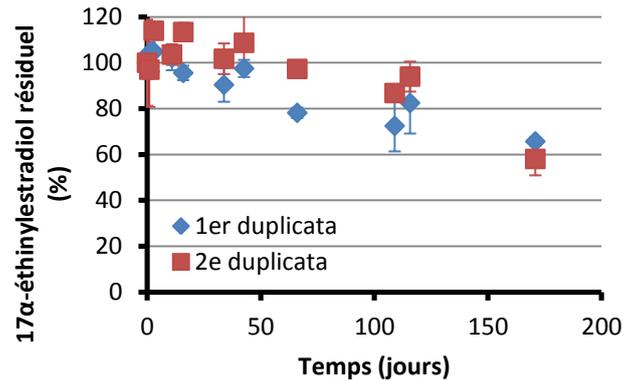


Figure B.13 17 α -éthinyloestradiol résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

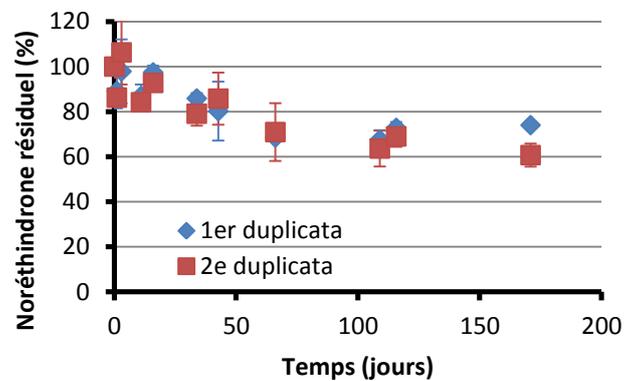


Figure B.14 Noréthindrone résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

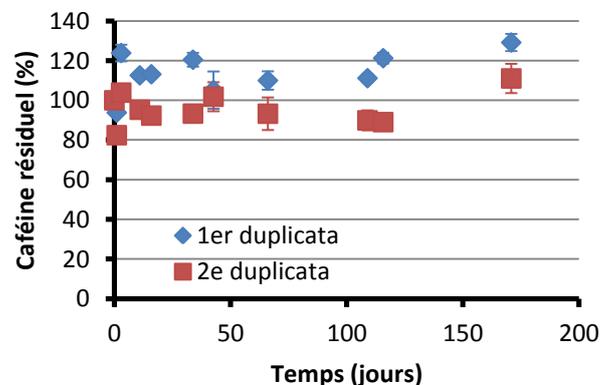


Figure B.15 Caféine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à 0.45 μm , aérée 60 min par jour, dopée initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

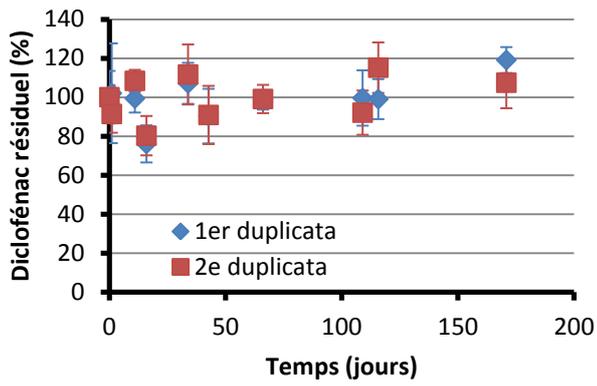


Figure B.16 Diclofénac résiduel (%) dans une eau brute filtrée à $0.45 \mu\text{m}$, aérée 60 min par jour, dopée initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante ($21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

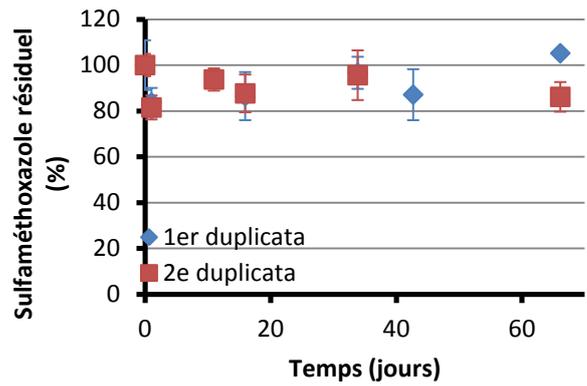


Figure B.18 Sulfaméthoxazole résiduel (%) dans une eau brute filtrée à $0.45 \mu\text{m}$, aérée 60 min par jour, dopée initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante ($21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

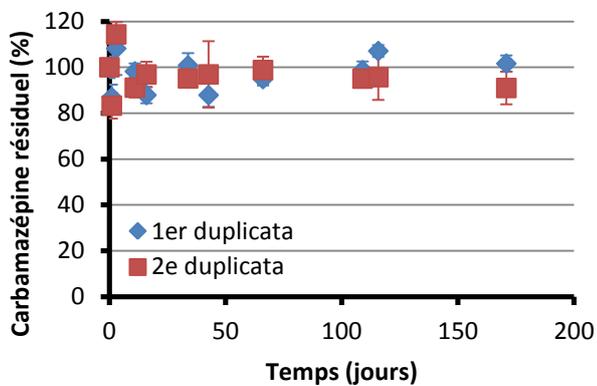


Figure B.17 Carbamazépine résiduel (%) dans une eau brute filtrée à $0.45 \mu\text{m}$, aérée 60 min par jour, dopée initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stockée à température ambiante ($21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

Résultats des cinétiques de l'expérience III

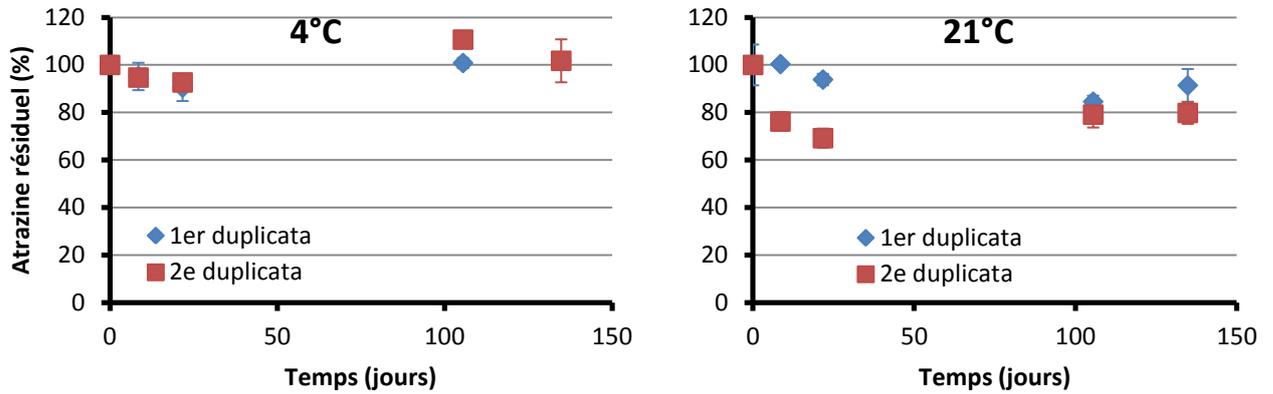


Figure B.19 Atrazine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ °C}$ et à température ambiante ($21 \pm 2 \text{ °C}$) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplique.

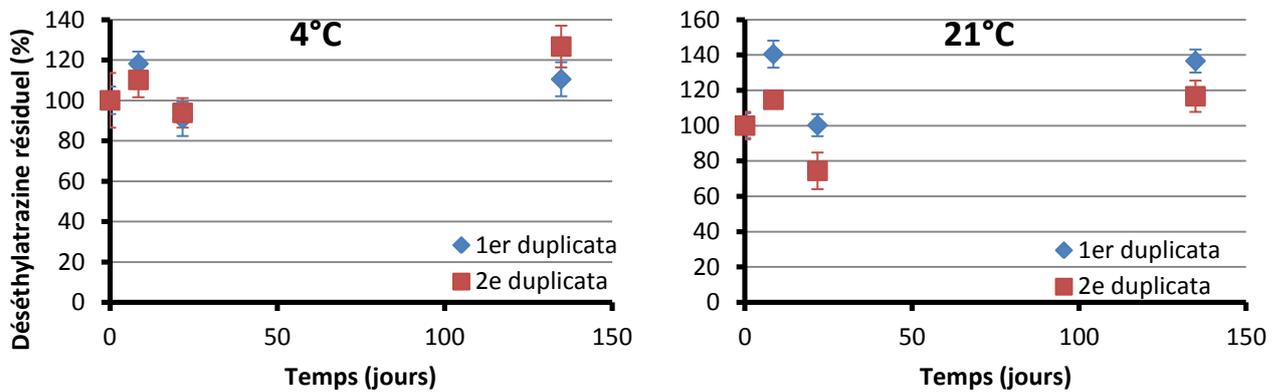


Figure B.20 Déséthylatrazine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ °C}$ et à température ambiante ($21 \pm 2 \text{ °C}$) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplique.

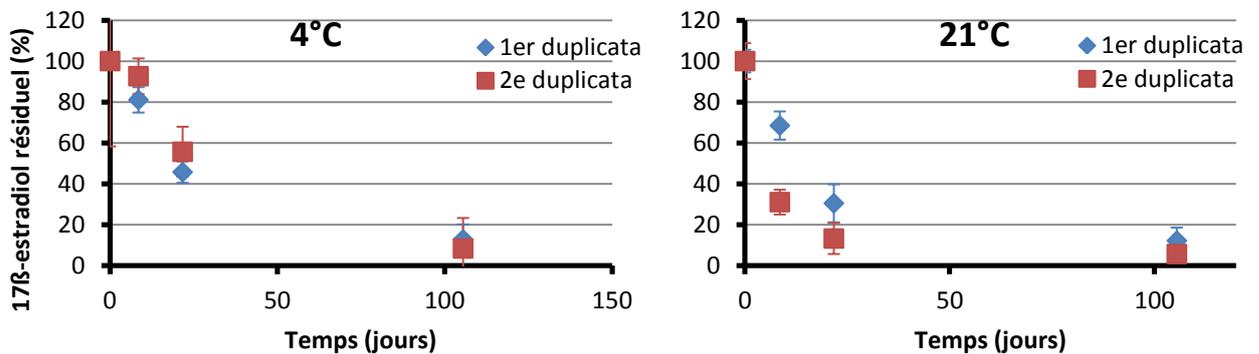


Figure B.21 17β -estradiol résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ °C}$ et à température ambiante ($21 \pm 2 \text{ °C}$) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplique.

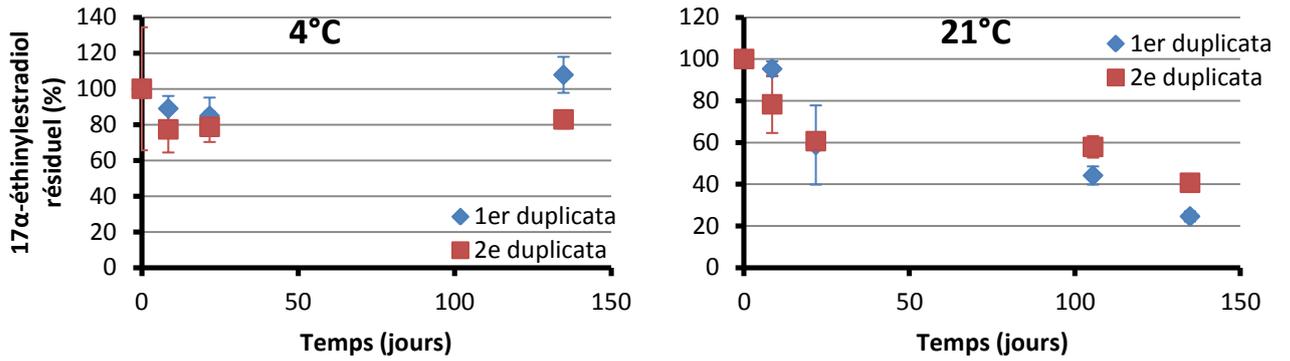


Figure B.22 17 α -éthinyloestradiol résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplique.

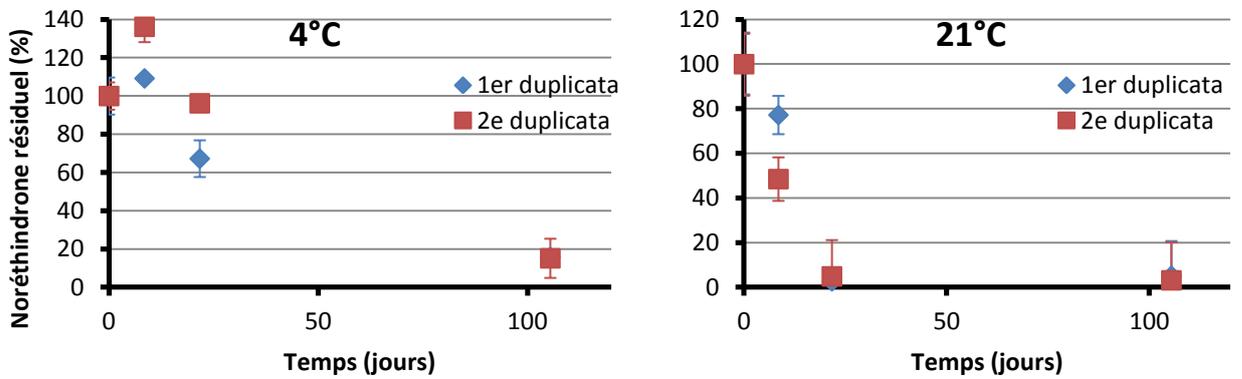


Figure B.23 Noréthindrone résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplique.

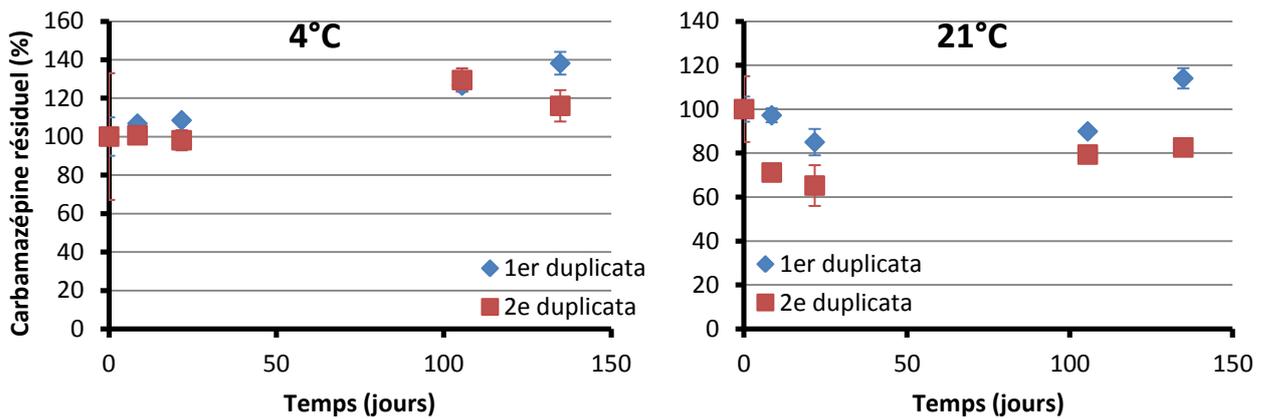


Figure B.24 Carbamazépine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à température ambiante (21 ± 2 °C) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplique.

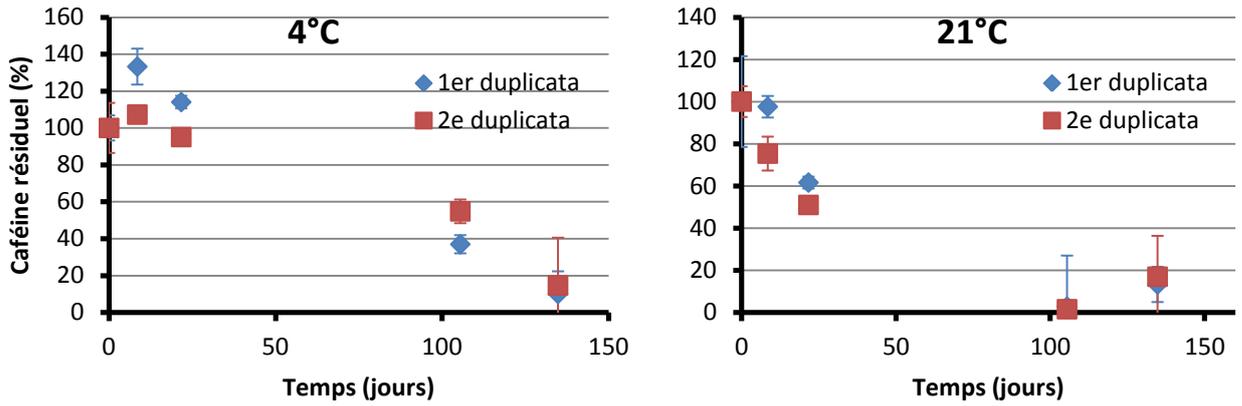


Figure B.25 Caféine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ et à température ambiante ($21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplique.

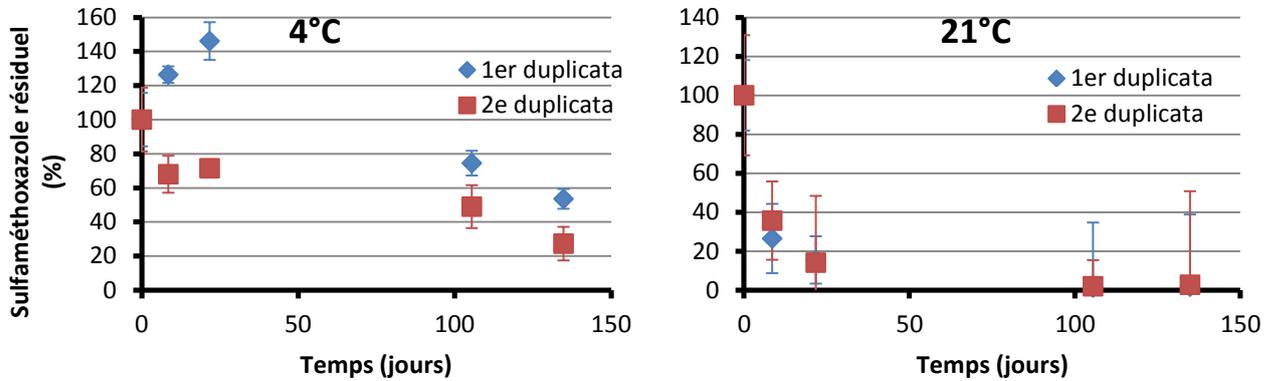


Figure B.26 Sulfaméthoxazole résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ et à température ambiante ($21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplique.

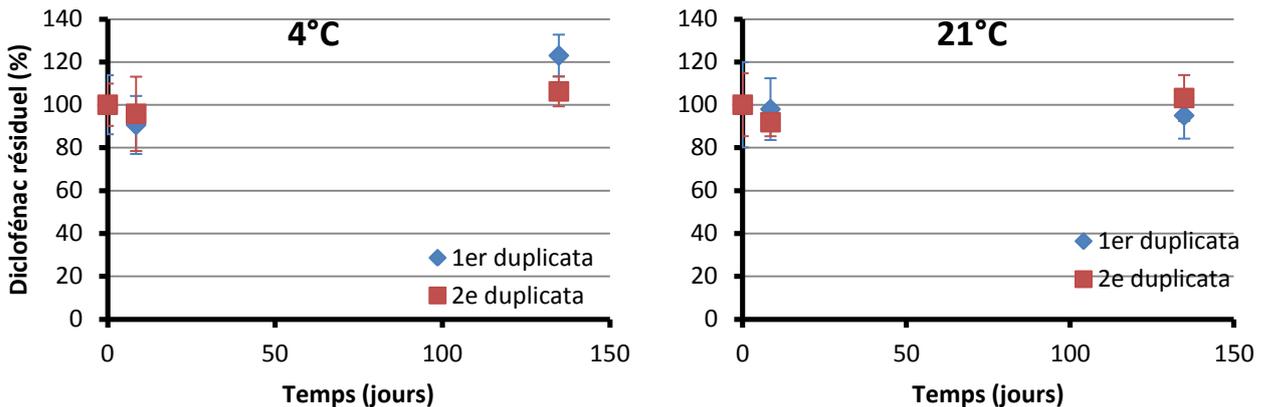


Figure B.27 Diclofénac résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ et à température ambiante ($21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplique.

Résultats des cinétiques de l'expérience IV

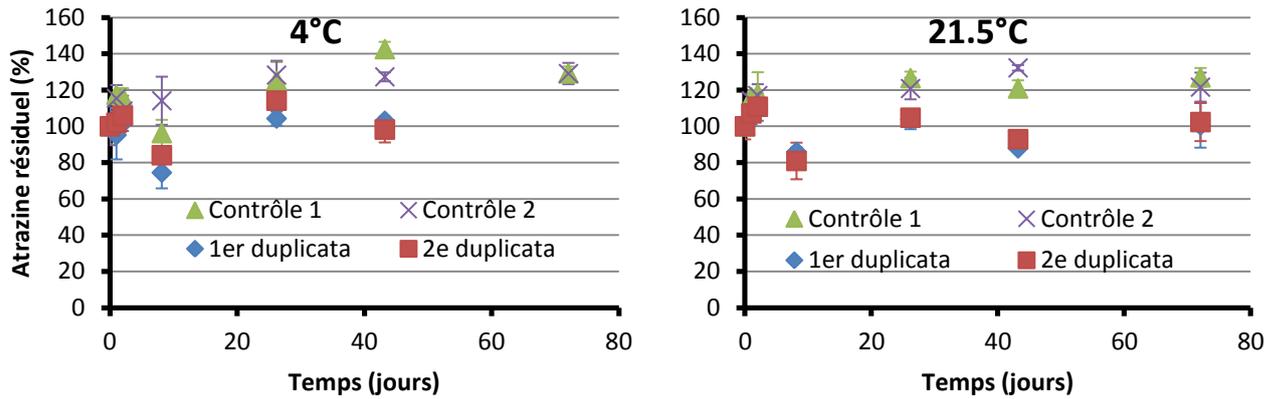


Figure B.28 Atrazine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ et à $21.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

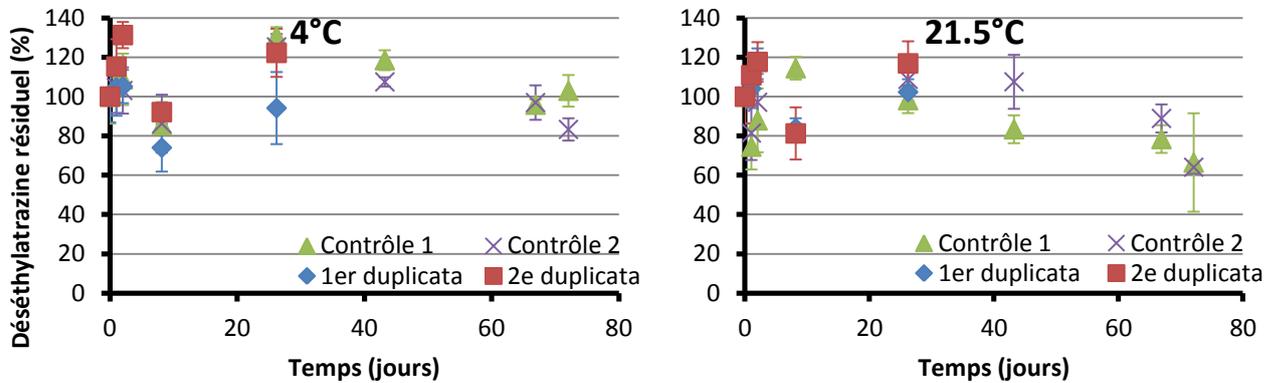


Figure B.29 Déséthylatrazine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ et à $21.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

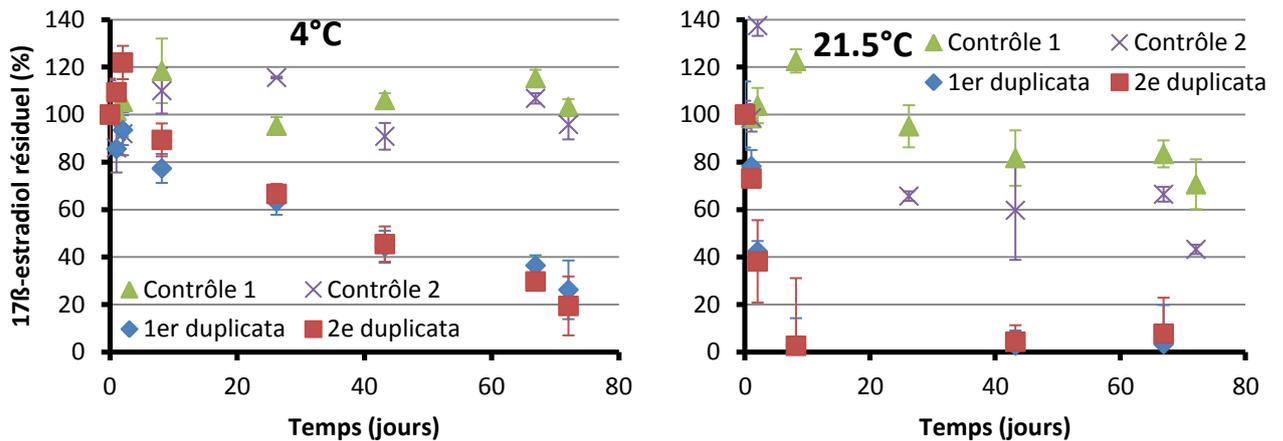


Figure B.30 17β -estradiol résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ et à $21.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

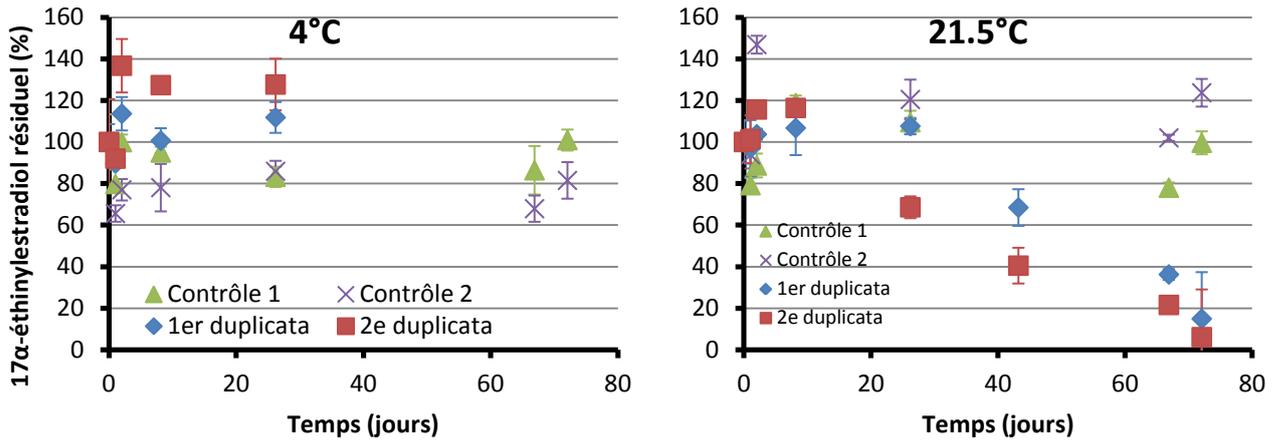


Figure B.31 17α-éthinyloestradiol résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.

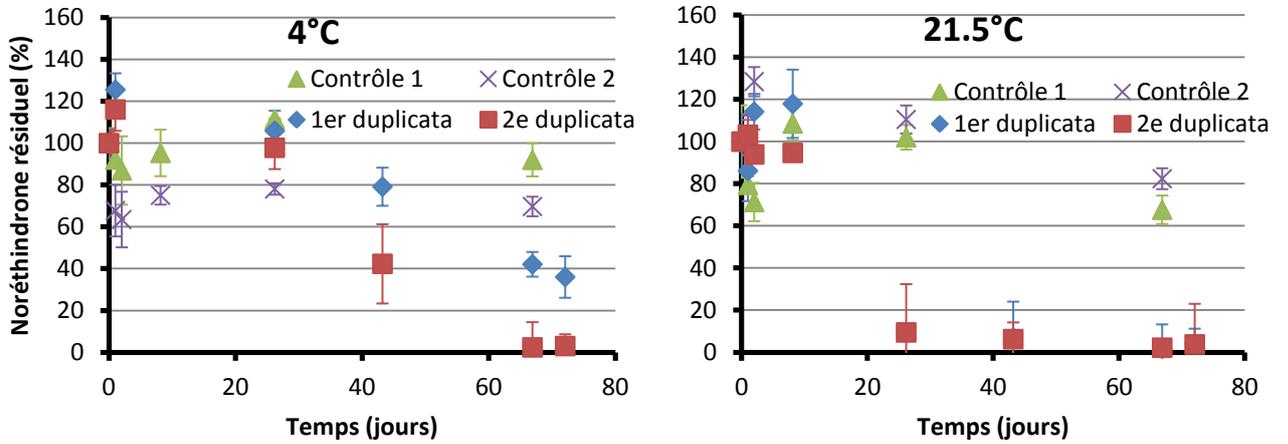


Figure B.32 Noréthindrone résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.

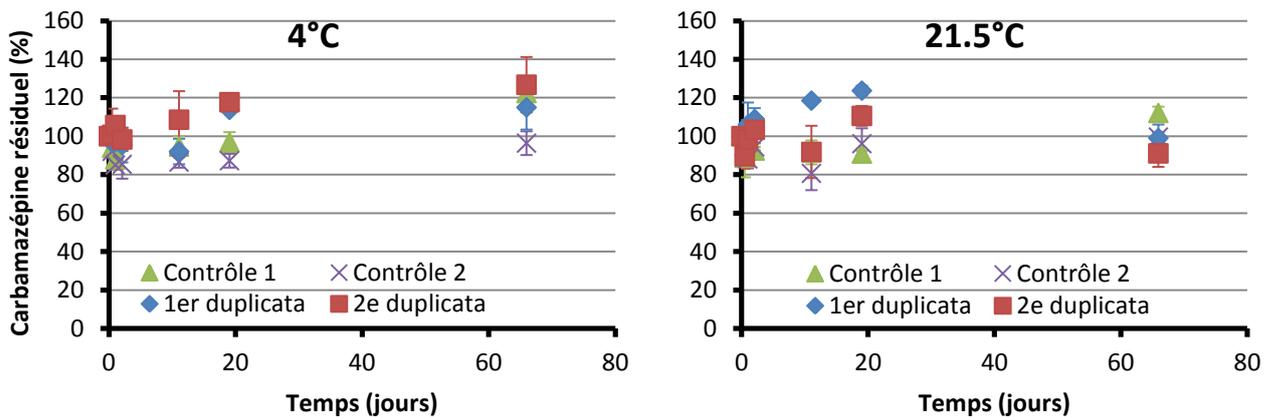


Figure B.33 Carbamazépine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à 400 µg L⁻¹ et stocké à 4 ± 0.5 °C et à 21.5 ± 0.5 °C en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique (n = 3) sur la mesure d'un réplica.

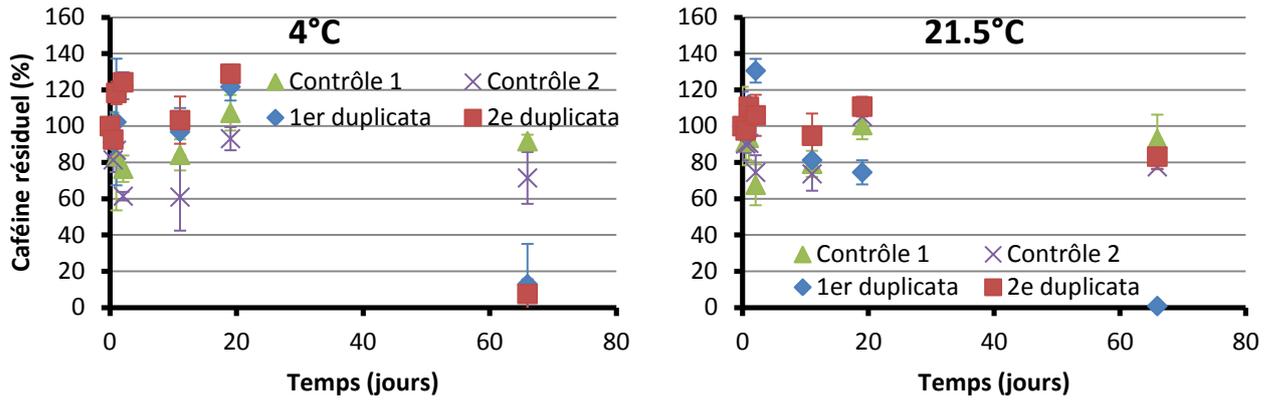


Figure B.34 Caféine résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ et à $21.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 3$) sur la mesure d'un réplica.

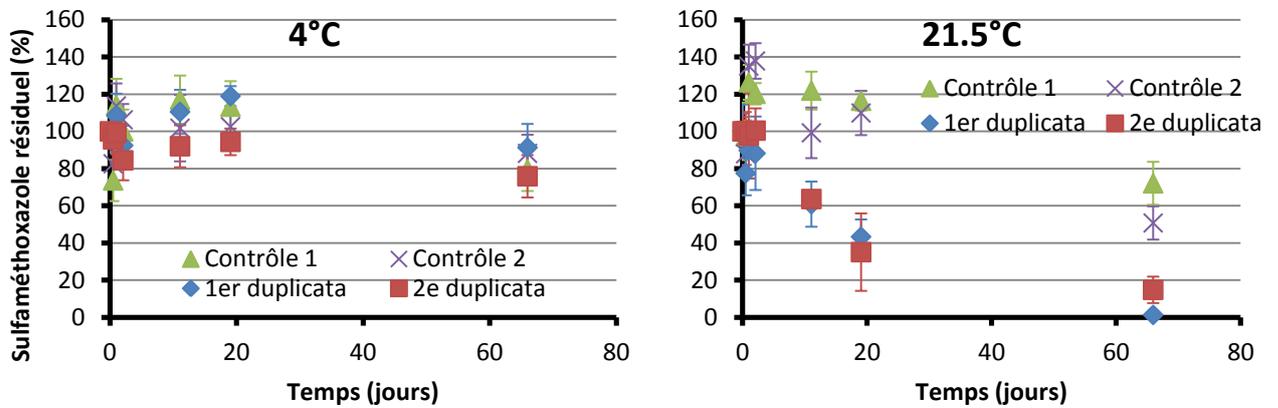


Figure B.35 Sulfaméthoxazole résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ et à $21.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

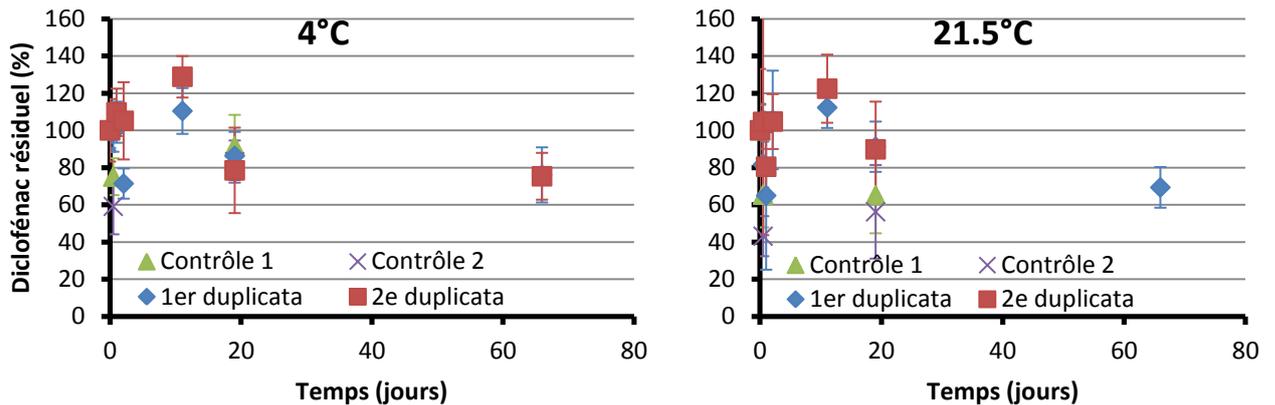


Figure B.36 Diclofénac résiduel (%) dans l'effluent municipal d'un décanteur primaire d'eau usée, dopé initialement à $400 \mu\text{g L}^{-1}$ et stocké à $4 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ et à $21.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ en fonction du temps (jours). Les barres d'erreur représentent la variabilité analytique ($n = 5$) sur la mesure d'un réplica.

Concentrations publiées des composés à l'étude dans différents milieux aquatiques

Tableau B-1 Valeurs publiées de concentrations des pesticides à l'étude retrouvés dans les affluents et effluents d'eaux usées en ng L⁻¹

Pays (nombre d'usines)	Type d'eau	ATZ (ng L ⁻¹)	DEA (ng L ⁻¹)	Référence
Suisse (1)	Effluent Primaire	30 ± 10	30 ± 10	[65]
	Effluent Secondaire	30 ± 10	30 ± 10	
Canada (1)	Affluent	< 67	< 46	[1]
	Effluent	< 67	< 46	
Canada (1)	Affluent	≈ 9.0	n.d.	[16]
	Effluent	≈ 8.5	n.d.	

Tableau B-2 Valeurs publiées de concentrations d'hormones à l'étude retrouvées dans les affluents et effluents d'eaux usées en ng L⁻¹

Pays (nombre d'usines)	Type d'eau	E2 (ng L ⁻¹)	EE2 (ng L ⁻¹)	NOR (ng L ⁻¹)	Référence
Italie (5) & Pays-Bas (3)	Affluent	<0.5 - 31	< 0.5 - 10	-	[19]
	Effluent	<0.5 - 12	< 0.5 - 4.5	-	
Canada (1)	moyenne Effluent Final (valeur max)	6 (64)	9 (42)	-	[20]
Allemagne (1)	moyenne Effluent Final (valeur max)	< 1 (3)	1 (15)	-	
Chine (1)	Affluent	15.7 ± 2.8	< 0.3	< 0.2	[21]
	Effluent	1.0 ± 0.5	< 0.3	< 0.2	
Chine (1)	Affluent	12 - 23.9	< LOD (ng L ⁻¹)	< LOD (ng L ⁻¹)	[22]
	Effluent	1.5 - 8.7	< LOD (ng L ⁻¹)	< LOD (ng L ⁻¹)	
Chine (7)	Affluent	0.9 - 3.8	< 0.5	4.6 - 12	[23]
	Effluent	0.2 - 0.8	< 0.14	< LOD (ng L ⁻¹)	
Japon (1)	Affluent	-	-	< 1.2	[24]
	Effluent	-	-	< 0.60	
France (3)	Effluent	<0.3 - <3.8	<0.7 - <5.3	<1.1 - <6.5	[39]
Canada (1)	Affluent	120 - 125	75 - 90	70 - 205	[25]
	Effluent	90	< 2.7	53	
Canada (5)	Affluent	-	-	26 - 224	[31]
	Effluent	-	5 - 178	< LOD - 159	
Canada (1)	Affluent	310 ± 2	388 ± 2	496 ± 2	[1]
	Effluent	290 ± 2	380 ± 1	450 ± 3	

Tableau B-3 Valeurs publiées de concentrations des autres contaminants émergents à l'étude retrouvés dans les affluents et effluents d'eaux usées en ng L⁻¹

Pays (nombre d'usines)	Type d'eau	CBZ (ng L ⁻¹)	CAF (ng L ⁻¹)	SMX (ng L ⁻¹)	DCF (ng L ⁻¹)	Référence
Espagne (1)	Effluent Primaire (moyenne)	54 - 220 (156)	-	250 - 1300 (93)	1000 - 1600 (1320)	[42]
Allemagne (30-49)	moyenne Effluent Final (valeur max)	2100 (n.d.)	-	-	810 (2100)	[43]
Suisse (1)	Effluent Primaire	-	-	200 ± 40	1450 ± 70	[65]
	Effluent Secondaire	-	-	140 ± 10	690 ± 190	
Canada (1)	Affluent	-	20000 - 30000	-	-	[52]
USA (1)	Affluent	-	20000	-	-	
	Effluent	-	6700	-	-	
Allemagne (1)	Affluent	-	147000 ± 76000	-	-	
Suède (1)	Effluent	-	190 -1900	-	-	[1]
	Affluent	305 ± 3	3431 ± 1	190 ± 2	256 ± 2	
Canada (1)	Effluent	274 ± 2	3125 ± 3	180 ± 1	200 ± 2	[16]
	Affluent	≈ 120	≈ 14000	-	-	
Canada (1)	Effluent	≈ 110	≈ 11000	-	-	[44]
	Effluent	7 - 126	22 - 677	-	5 - 359	

Tableau B-4 Valeurs publiées de concentrations des pesticides à l'étude retrouvés dans les eaux de surface en ng L⁻¹

Type d'eau	Pays	ATZ (ng L ⁻¹)	DEA (ng L ⁻¹)	Référence
Lacs en montagne	Suisse	< 1	0.04-0.08	[15]
Lacs dans bassin versant utilisation atrazine	Suisse	jusqu'à 460	-	[15]
Eaux de surface France en région agricole	France	< 100 - 2000	-	[79]
Dizaine cours d'eau en zone agricole	USA	520 - 9070	12-28%	[11]
Rivière Sundusky, affluent du Lac Érié	USA	5920 - 11300	-	[178]
Lac Érié	USA	500 - 3500	-	[178]
Fleuve Saint-Laurent	Canada	48 ± 3	479 ± 4	[17]
Rivière des Prairies	Canada	2.0 ± 0.8	20 ± 4	[17]
Rivière des Mille-Iles	Canada	2.0 ± 0.4	19 ± 1	[17]
Fleuve Saint-Laurent	Canada	63.4 ± 0.9	-	[41]
Rivière des Outaouais	Canada	2.21 ± 0.02	-	[41]
Rivière Yamaska	Canada	16.9 ± 0.2	-	[41]
Fleuve Saint-Laurent	Canada	≈ 30	≈ 13.5	[16]
Rivière des Mille-Iles	Canada	≈ 15	n.d.	[16]
Lacs	Suisse	50 - 140	-	[70]
Rivières	Suisse	10 - 80	-	[70]

Tableau B-5 Valeurs publiées de concentrations d'hormones à l'étude retrouvées dans les eaux de surface en ng L⁻¹

Type d'eau	Pays	E2 (ng L ⁻¹)	EE2 (ng L ⁻¹)	NOR (ng L ⁻¹)	Référence
Fleuve Saint-Laurent et Rivière des Mille-Iles	Canada	8 - 9	< 2.7	< 2.7	[25]
3 locations sur une rivière	France	< 0.8 - < 1.5	< 0.4 - < 1.6	< 1.3 - < 2.5	[39]
Rivière réceptrice d'une WWTP	Japon	-	-	< 0.30	[24]
7 rivières réceptrices de WWTPs	Chine	< 0.02 - 0.8	< 0.10	< 0.30	[23]
13 rivières	Angleterre	-	8 - 20	< 1 - 7	[181]
15 cours d'eau	Allemagne	< 0.5	< 0.5	< 0.5	[20]
11 cours d'eau	Pays-Bas	< 0.3 - 5.5	< 0.1 - 4.3	-	[182]
1 lac et 1 canal échantillonnés à différents points	USA	n.d - 2.67	n.d - 0.520	-	[183]
139 cours d'eau (eaux réceptrices, eaux en zone fortement urbanisées) (médiane)	USA	9	73	48	[53]

Tableau B-6 Valeurs publiées de concentrations des autres contaminants émergents à l'étude retrouvés dans les eaux de surface en ng L⁻¹

Type d'eau	Pays	CBZ (ng L ⁻¹)	CAF (ng L ⁻¹)	SMX (ng L ⁻¹)	DCF (ng L ⁻¹)	Référence
Fleuve Saint-Laurent	Canada	11 ± 1	-	< 2	-	[17]
Rivière des Prairies	Canada	6.0 ± 0.5	-	< 1	-	[17]
Rivière des Mille-Iles	Canada	10 ± 1	-	< 1	-	[17]
Fleuve Saint-Laurent	Canada	1.78 ± 0.09	-	-	-	[41]
Rivière des Outaouais	Canada	< 0.2	-	-	-	[41]
Rivière Yamaska	Canada	3.8 ± 0.3	-	-	-	[41]
Fleuve Saint-Laurent	Canada	≈ 3	≈ 14	-	-	[16]
Rivière des Mille-Iles	Canada	≈ 5	≈ 110	-	-	[16]
Fleuve Mississippi	USA	-	10 - 100	-	-	[52]
Rivières	USA	-	13 - 115	-	-	[52]
Port de Boston (eau de mer) et rivières tributaires (eau saumâtre)	USA	-	130 - 370	-	-	[52]
Fleuve Rhin	Allemagne	-	530 (médiane)	-	-	[52]
Delta du Rhin	Pays-Bas	-	jusqu'à 171	-	-	[52]
Fleuve Axio	Grèce	-	160	-	-	[52]
Rivières	Allemagne	-	-	30 (moyenne)	-	[60]
6 sites sur le Fleuve Tyne	Angleterre	-	-	< 20	< 8	[61]
16 cours d'eau en Allemagne	Allemagne	-	-	40 - 50	-	[62]
Fleuve Elbe	Allemagne	-	-	30	-	[63]
139 cours d'eau (eaux réceptrices, eaux en zone fortement urbanisées) (médiane)	USA	-	81	150	-	[53]
Lac Greifensee	Suisse	≈ 40	-	-	8 - 10	[67]
4 rivières ontariennes adjacentes à WWTP	Canada	2 - 80	14 - 46	-	nd - 50	[44]
Fleuve Han	Corée	-	268.7	26.9	-	[54]
6 points dans le fleuve Elbe et 2 tributaires	Allemagne	-	-	-	20 - 50	[68]
Lac	Suisse	35 - 60	-	-	n.d. - 10	[70]
Rivières	Suisse	30 - 250	-	-	20 - 150	[70]
Rivière en mont d'une WWTP	Grande-Bretagne	-	-	< 50	< 20	[64]
Rivière en aval d'une WWTP	Grande-Bretagne	-	-	< 50	91	[64]
18 cours d'eau	Brésil	-	-	-	20 (médiane)	[69]

Tableau B-7 Valeurs publiées de concentrations des contaminants émergents à l'étude retrouvés dans l'eau potable en ng L⁻¹

Pays	ATZ (ng L ⁻¹)	DEA (ng L ⁻¹)	E2 (ng L ⁻¹)	EE2 (ng L ⁻¹)	NOR (ng L ⁻¹)	CBZ (ng L ⁻¹)	CAF (ng L ⁻¹)	SMZ (ng L ⁻¹)	DCF (ng L ⁻¹)	Référence
Espagne	< LOD - 18	≤ 2	< LOD	< LOD	-	-	-	-	-	[162]
Allemagne	-	-	0.3	0.15-0.50	-	-	-	-	-	[32]
USA	49	-	< 0.50	< 1.0	-	6	-	0.39	< 0.25	[33]
Italie	3.0 - 16.0 (5.3 ± 5.2)	3.2-17.0 (7.0±5.2)	-	-	-	3.0 - 9.1 (5.0 ± 2.2)	10.5-53 (23.7±15.6)	-	-	[161]
Canada	15 - 28	278 - 331	-	-	-	<3 - 5.6	-	< 1	-	[17]
Canada	< 0.03*	-	-	-	-	< 0.2	-	-	-	[41]
Canada	< 0.03 - 52.6	-	-	-	-	< 0.2 -1	-	-	-	[41]
Canada	≈ 20	≈ 40	-	-	-	≈ 4	≈ 35	-	-	[16]
Chine	-	-	< 0.6	< 1.2	< 2.8	-	-	-	-	[34]
Allemagne	-	-	-	-	-	-	-	-	< 0.5	[184]

*Eau embouteillée

Dégradation dans les milieux aquatiques rapportée dans la littérature

Tableau B-8 Données de dégradation pour les neufs contaminants émergents rapportées dans la littérature

Référence	Système à l'étude	Milieu à l'étude	Caractéristiques	t _{1/2} (jours)	% Dégradation en (temps)	Processus	Composé
[178]			Dextrose comme source C _{externe}		40 (5 jours)	biodégradation	ATZ
[178]	Cultures bactériennes mixtes en anaérobiose		∅ C _{externe}	n.a.	61.8 (34 jours)	biodégradation	ATZ
[178]			∅ C & N _{externe}		42 (150 jours)	biodégradation	ATZ
[178]	Culture d' <i>Agrobacterium radiobacter</i> , bactérie commune aux sols, en aérobiose		n.a.	n.a.	94 (72 heures)	biodégradation	ATZ
[79]	sédiments d'une rivière en aérobiose	eau eau:sédiment (extractible)	0.8% C _{org}	20 80		biodégradation + hydrolyse + oxydation	ATZ
[79]	sédiments d'une mare en aérobiose	eau eau:sédiment (extractible)	5% C _{org}	14 35	n.a.	biodégradation + hydrolyse + oxydation	ATZ
[79]	eau en aérobiose en aval d'une sucrerie	500 ml eau : 12.5 g sédiments	10 ppm sucres à 22°C	n.a.	100 (6 semaines)	biodégradation	ATZ
[79]	eau distillée en aérobiose		à 22°C		100 (18 semaines)	biodégradation	ATZ
[79]	eau d'une mare en anaérobiose	50 ml eau : 25 g sédiments	n.a.	608	n.a.	dégradation générale	ATZ
[79]	eau salée	n.a.	n.a.	15-20	n.a.	dégradation générale	ATZ
[79]			ph 5	1000		hydrolyse	ATZ
[79]			ph 7	nulle	n.a.	hydrolyse	ATZ
[79]	eau stérile tamponnée		ph 9	6600		hydrolyse	ATZ
[79]			∅ photo-sensibilisateur	≈335	n.a.	photolyse	ATZ
[79]			avec photo-sensibilisateur	<<< 335	n.a.	photolyse	ATZ
[156]	eau estuarienne	eau	n.a.	3-12	n.a.	hydrolyse + oxydation + biodégradation	ATZ

[156]		sédiments		15-20		hydrolyse + oxydation + biodégradation	ATZ	
[78]	systèmes aqueux	eau en général	n.a.	>>365	n.a.	photolyse	ATZ	
[185]	eau potable	n.a.	n.a.	n.a.	persistant (10 jours)	dégradation générale	DEA	
[186]	bloc digestion en aérobiose	boue		n.a.	88 (24 heures)	biodégradation	E2	
[186]	bloc digestion en anaérobiose	boue	21 °C	7	n.a.	biodégradation	E2	
[186]	bioréacteur	n.a.		n.a.	92 (7 heures) & 100 (49 heures)	biodégradation	E2	
[27]	eau d'une rivière en aérobiose		20 °C	n.a.	100 (1.2 jours)	biodégradation	E2	
[27]					17 (1.2 jours)	biodégradation	EE2	
[18]	eau marine en aérobiose		20 °C		stable au 28e jour mais ↓ du 28e au 42e pour une dégradation ≈ complète	biodégradation	E2	
[18]						biodégradation	EE2	
[18]	eau marine en anaérobiose				nulle	n.a.	biodégradation	E2
[18]						biodégradation	EE2	
[27]	eaux de rivières industrielles, urbaines et rurales		pH 7.1-8.4, DOC 2.9-10.3 mg/L, TSS 5.2-83 mg/L, bactéries 3×10^6 - 3.5×10^8 cfu/L, 20 °C		0.2-9	n.a.	biodégradation	E2
[27]					bcp + résistant que E2	biodégradation	EE2	
[27]					5	n.a.	photolyse	E2 & EE2
[27]					stérile	nulle	persistant (16 jours)	hydrolyse + oxydation
[26]	eaux de rivières anglaises		20 °C		2-3	n.a.	biodégradation	E2
[26]					4-6	biodégradation	EE2	
[26]					stérile	nulle	persistant	hydrolyse + oxydation
[187]	eau potable		n.a.		38.9 (10 jours)	dégradation générale	E2	
[187]					22.4 (10 jours)	dégradation générale	EE2	
[82]	eaux de rivières japonaises		15 °C (hiver)	n.a.	100 (7 jours)	biodégradation	E2	
[82]			28 °C (été)	n.a.	100 (5 jours)	biodégradation		
[82]			15 °C (hiver)	14	n.a.	biodégradation		
[82]			28 °C (été)	>>14	n.a.	biodégradation	EE2	
[82]			stérile	nulle	persistant (5 jours)	hydrolyse + oxydation	E2 & EE2	

[87]			T(°C) pas spécifiée	n.a.	non-significatif	hydrolyse	CBZ
[87]	microcosmes aquatiques de 12,000 L tenus à l'extérieur		-communautés de poissons, plantes aquatiques, zoo-, phytoplancton, macrophytes & bactéries	n.a.	non-significatif	biodégradation	CBZ
[87]				82	n.a.	photolyse	CBZ
[88]	eau boueuse d'un ruisseau	eau	oxique (noirceur) à 20°C	47	n.a.	biodégradation	CBZ
[88]		eau : sédiment		328		biodégradation	CBZ
[84]	eau bidistillée		irradiée naturellement au printemps 40°N, à pH 5,5 à 25 °C	121.6 heures d'irradiation	n.a.	photolyse	CBZ
[91]	eau bidistillée		irradiée naturellement en hiver 50°N à pH 5,5	100	n.a.	photolyse	CBZ
[86]	eaux usées de 11 usines de traitement (Australie)		Combinaison de décantation primaire, boues activées, digestion anaérobie, lit bactérien: âge des solides entre 1 et 40 jours	n.a.	réduction non-significative durant le traitement	biodégradation	CBZ
[87]			T(°C) pas spécifiée	n.a.	non-significatif	hydrolyse	CAF
[87]	microcosmes aquatiques de 12,000 L tenus à l'extérieur		-communautés de poissons, plantes aquatiques, zoo-, phytoplancton, macrophytes & bactéries	n.a.	non-significatif	biodégradation	CAF
[87]				1-2	n.a.	photolyse	CAF
[52]			stérile (noirceur) à 20°C	nulle	persistant	hydrolyse + oxydation	CAF
[52]	eau lac		stérile à 20°C	12.8	n.a.	photolyse	CAF
[52]			naturelle (noirceur) à 20°C	>120	n.a.	biodégradation	CAF
[52]			naturelle à 20°C	12	n.a.	photolyse + biodégradation	CAF
[90]	affluent 1 ^{aire} eau usée		19 °C	n.a.	≈100 (3 jours)	biodégradation	CAF
[90]	effluent eau usée				≈100 (10 jours)	biodégradation	CAF
[89]	Sédiments en amont de 3 WWTP		oxiques, 23 °C	n.a.	20-90 (2 jours)	biodégradation	CAF
[89]			anoxiques, 23 °C		85-98 (32 jours)	biodégradation	CAF
[89]	eau en amont de 3 WWTP		n.a., 23 °C	nulle	faible	biodégradation	CAF

[89]	eau en aval de 3 WWTP				biodégradation	CAF
[87]	microcosmes aquatiques de 12,000 L tenus à l'extérieur	T(°C) pas spécifiée	n.a.	non-significatif	hydrolyse	SMX
[87]		communautés de poissons, plantes aquatiques, zoo-, phytoplancton, macrophytes & bactéries	n.a.	non-significatif	biodégradation	SMX
[87]			19	n.a.	photolyse	SMX
[90]	affluent 1 ^{aire} eau usée	19 °C	n.a.	20 (10 jours)	biodégradation	SMX
[90]	effluent eau usée		nulle	persistant	biodégradation	SMX
[59]	système synthétique 3 eau : 1 sédiments	non-stérile, 25 °C	14	n.a.	biodégradation	SMX
[59]		stérile, 25 °C	115		biodégradation	SMX
[92]	eau naturelle	stérile (noirceur)	nulle	persistant	hydrolyse	SMX
[92]		stérile	48.9		photolyse	SMX
[92]		naturelle (noirceur)	47.4	n.a.	biodégradation	SMX
[92]		naturelle	7.3		biodégradation + photolyse	SMX
[92]		stérile à la noirceur	nulle	persistant	hydrolyse	SMX
[92]		stérile	47.3		photolyse	SMX
[92]	boue	naturelle (noirceur)	10.1	n.a.	biodégradation	SMX
[92]		naturelle	4.9		biodégradation + photolyse	SMX
[91]	eau bidistillée	lumière naturelle hivernale 50°N à pH 5,5	2.4	n.a.	photolyse	SMX
[91]	eau bidistillée	lumière naturelle hivernale 50°N à pH 5,5	5	n.a.	photolyse	DCF
[45]	boue activée	pH 4.4	nulle	persistant (28 jours)	biodégradation	DCF
[45]	eau de surface d'un lac	n.a.	n.a.	90 (1 heure)	photolyse	DCF
[45]		noirceur	nulle	persistant	hydrolyse + biodégradation	DCF