



Méthodologies analytiques basées sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse pour la quantification multi-familles de tensioactifs dans les rivières

Laure Wiest

► To cite this version:

Laure Wiest. Méthodologies analytiques basées sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse pour la quantification multi-familles de tensioactifs dans les rivières. Chimie analytique. Université de Lyon, 2021. Français. <NNT : 2021LYSE1138>. <tel-03335636v2>

HAL Id: tel-03335636

<https://hal.science/tel-03335636v2>

Submitted on 14 Oct 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

N°d'ordre NNT : 2021LYSE1138



THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale N° 206
Chimie de Lyon

Spécialité de doctorat : Chimie analytique pour l'environnement

Soutenue publiquement le 12/07/2021, par :
Laure Wiest (Tribalat)

Méthodologies analytiques basées sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse pour la quantification multi-familles de tensioactifs dans les rivières

Devant le jury composé de :

Chovelon Jean-Marc, Professeur, Université Lyon 1, IRCE Lyon

Président du jury

Gomez Hernandez Maria Elena, Professeure, Université de Montpellier

Rapporteuse

Moilleron Régis, Professeur, Université Paris Est Créteil

Rapporteur

Labanowski Jérôme, Chargé de recherche, CNRS IC2MP Poitiers

Examineur

Miège Cécile, Directrice de recherche, INRAE UR RiverLy

Examinatrice

Vulliet Emmanuelle, Directrice de recherche, CNRS UMR 5280 ISA

Directrice de thèse

Université Claude Bernard – LYON 1

Administrateur provisoire de l'Université	M. Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique	M. Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. Didier REVEL
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. Philippe CHEVALLIER
Vice-Président de la Commission de Recherche	M. Jean-François MORNEX
Directeur Général des Services	M. Pierre ROLLAND

COMPOSANTES SANTE

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT
Faculté d'Odontologie	Doyenne : Mme Dominique SEUX
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux	Doyenne : Mme Carole BURILLON
Faculté de Médecine Lyon-Est	Doyen : M. Gilles RODE
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation (ISTR)	Directeur : M. Xavier PERROT
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISBP)	Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA

COMPOSANTES & DEPARTEMENTS DE SCIENCES & TECHNOLOGIE

Département Génie Electrique et des Procédés (GEP)	Directrice : Mme Rosaria FERRIGNO
Département Informatique	Directeur : M. Behzad SHARIAT
Département Mécanique	Directeur M. Marc BUFFAT
Ecole Supérieure de Chimie, Physique, Electronique (CPE Lyon)	Directeur : Gérard PIGNAULT
Institut de Science Financière et d'Assurances (ISFA)	Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
Institut National du Professorat et de l'Education	Administrateur Provisoire : M. Pierre CHAREYRON
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. Christophe VITON
Observatoire de Lyon	Directrice : Mme Isabelle DANIEL
Polytechnique Lyon	Directeur : Emmanuel PERRIN
UFR Biosciences	Administratrice provisoire : Mme Kathrin GIESELER
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Directeur : M. Yannick VANPOULLE
UFR Faculté des Sciences	Directeur : M. Bruno ANDRIOLETTI

Méthodologies analytiques basées sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse pour la quantification multi-familles de tensioactifs dans les rivières

Mots-clés : tensioactif, LC-MS/MS, quantification, eau de surface, sédiment, rivière, extraction sur phase solide, ultrasons

Résumé : Le nombre de nouveaux produits chimiques sur le marché augmente chaque année. De surcroît, ils sont de plus en plus complexes et les formulations contiennent des mélanges qui sont finalement disséminés dans divers compartiments de l'environnement. Parmi ces micropolluants, les tensioactifs présentent quelques particularités. Tout d'abord, les tensioactifs sont des mélanges complexes d'homologues et isomères dont la composition dépend des matières premières et des procédés de synthèse utilisés. Deuxièmement, certains, comme les alkylbenzène sulfonate linéaires (LAS) et les triethanolamine esterquats (TEAQ), sont utilisés à des tonnages supérieurs à 100000 par an en Europe, ce qui peut faire craindre une « pseudo-persistance » dans les milieux récepteurs. Enfin, les domaines d'application des tensioactifs sont extrêmement variés, allant du domestique à l'industriel, en passant par l'agricole et l'hospitalier, ce qui suggère un grand nombre de sources de transfert vers l'environnement. Les données concernant leur occurrence sont très hétérogènes selon les familles, et certains types de tensioactifs n'ont jamais été recherchés dans les rivières jusqu'à présent. L'objectif de cette thèse est donc de développer des méthodologies analytiques sensibles et fiables qui permettent de combler ce manque de connaissance concernant l'occurrence des tensioactifs dans l'environnement. Afin d'obtenir une sensibilité suffisante, une méthode de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) a tout d'abord été optimisée. Une contamination des blancs instrumentaux, en particulier par les tensioactifs anioniques, à des concentrations comprises entre 0,1 µg/L et 3 µg/L a été observée et diminuée grâce à la calcination de la verrerie et l'utilisation d'eau minérale comme solvant d'injection. Les limites de quantification (LQ) étant encore trop élevées par rapport aux PNEC, une étape de préconcentration par extraction sur phase solide a été mise au point pour l'analyse dans les eaux de rivière. Concernant l'analyse des sédiments, une extraction assistée par ultrasons a été optimisée puis validée. Avec des LQ entre 0,015 et 0,485 µg/L pour les eaux et entre 6,4 et 158 µg/kg pour les sédiments, les performances analytiques obtenues sont compatibles avec l'analyse de traces. L'application de ces méthodologies à des eaux et sédiments de rivière prélevés en France a montré une forte présence des tensioactifs dans ces milieux. En particulier, les LAS présentent à la fois des fréquences de quantification et des rapports concentrations moyennes sur PNEC supérieurs à 1, et représentent donc un risque important pour les écosystèmes.

Analytical methodologies based on liquid chromatography-mass spectrometry for multi-family quantification of surfactants in rivers

Keywords: surfactant, LC-MS/MS, quantification, surface water, sediment, river, solid phase extraction, ultrasound assisted extraction

Abstract: The number of chemicals on the market is increasing every year. Moreover, they are more and more complex and the formulations contain mixtures that are finally disseminated in various compartments of the environment. Among these micropollutants, surfactants present some particularities. First, surfactants are complex mixtures of homologues and isomers whose composition depends on the raw materials and the synthesis processes used. Secondly, some, such as linear alkylbenzene sulfonates (LAS) and triethanolamine esterquats (TEAQ), are used in very large quantities, which may induce "pseudo-persistence" in the receiving environments. Finally, the fields of application of surfactants are extremely varied, ranging from domestic to industrial, agricultural and hospital, which suggests a large number of sources of transfer to the environment. The data concerning their occurrence are very heterogeneous according to the families, and some types of surfactants have never been looked for in rivers until now. The objective of this thesis was therefore to develop sensitive and reliable analytical methodologies to fill this knowledge gap concerning the occurrence of surfactants in the environment. In order to obtain sufficient sensitivity, a liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method was first optimized. Contamination of instrumental blanks, in particular by anionic surfactants, at concentrations between 0.1 µg/L and 3 µg/L was observed and reduced thanks to the calcination of the glassware and the use of mineral water as injection solvent. As the limits of quantification (LOQ) were still too high compared to the PNEC, a pre-concentration step by solid phase extraction was developed for the analysis in river water. For sediment analysis, an ultrasound-assisted extraction was optimized and validated. With LOQs between 0.015 and 0.485 µg/L for water and between 6.4 and 158 µg/kg for sediment, the analytical performances obtained are compatible with trace analysis. The application of these methodologies to river waters and sediments sampled in France showed a high occurrence of surfactants in these media. In particular, LAS have both high quantification frequencies and mean concentration to PNEC ratios greater than 1, and therefore represent a significant risk to ecosystems.

*‘Not everything that can be measured is worth measuring,
and not everything worth measuring is measurable’*

Christian G Daughton (US EPA)

Remerciements

Je remercie Elena Gomez, professeure à l'université de Montpellier, et Régis Moilleron, professeur à l'université Paris Est Créteil, d'avoir évalué ce travail en tant que rapporteurs. Je les remercie pour leur lecture attentive du manuscrit et les nombreux commentaires qui ont permis de l'améliorer, et également pour les échanges enrichissants lors de la soutenance.

J'adresse également mes remerciements à Cécile Miège, directrice de recherche INRAE, et Jérôme Labanowski, chargé de recherche à l'université de Poitiers, d'avoir accepté d'évaluer ce travail en tant qu'examineurs. Je remercie également Jean-Marc Chovelon, professeur à l'université de Lyon, d'avoir accepté d'être président du jury. Merci à eux pour les échanges très constructifs lors de la soutenance.

Je remercie tout particulièrement ma directrice de thèse, Emmanuelle Vulliet, directrice adjointe de l'Institut des Sciences Analytiques (ISA), qui est également ma responsable d'équipe depuis 7 ans, et avec qui j'ai la chance de travailler depuis 15 ans. Je lui suis reconnaissante d'avoir initié ce travail de thèse et de m'avoir fait confiance pour le mener à bien. Je tiens également à remercier Marina Coquery, directrice de recherche INRAE et responsable du laboratoire de chimie des milieux aquatiques (LAMA) et François Lestremau, ingénieur INERIS, pour leur participation aux comités de suivi de thèse et leurs précieux conseils.

Un grand merci à Azziz Assoumani et François Lestremau, de l'INERIS, pour l'organisation et la valorisation de la campagne EMNAT et leurs relectures attentives des articles. Je remercie également tout particulièrement la « Team EMNAT » de l'équipe Traces, à savoir, Robert Baudot, Barbara Giroud et Maëva Fieu. Merci de ne pas avoir baissé les bras face aux (nombreux) problèmes rencontrés au cours de la campagne et de les avoir même résolus dans la bonne humeur. Je remercie également vivement Barbara pour la relecture de ce manuscrit.

Je tiens également à remercier les personnes sans qui je n'aurais pas eu la chance d'entrer au CNRS, en 2005, au Service Central d'Analyse, à savoir Marie-Florence Grenier Loustalot et Olivier Païssé. Merci de m'avoir fait confiance, et merci à Olivier, d'avoir partagé sa passion pour cette fabuleuse technique qu'est la chromatographie liquide. Merci également à Robert pour son accueil chaleureux lors de mes premiers jours, de m'avoir trouvé un bureau qui ne soit pas à 20 cm de la pompe turbo du spectro, et pour toutes ces années de collaboration qui furent très enrichissantes. Un grand merci également à Cécile Cren Olivé, d'avoir donné naissance à l'équipe Traces, et de m'avoir fait participer à cette aventure.

En parlant de l'équipe Traces, je tiens à remercier toutes les personnes faisant partie ou ayant fait partie de cette équipe, en particulier les permanents, Aurélie Fildier, Audrey Buleté, Florent Lafay et Gaëlle Daniele. J'en profite également pour remercier tous les CDD, doctorants ou post-doc, notamment, Alexandre Guironnet, Lucie Pinasseau, Vincent Dufour, Emmanuelle Lebeau, Aurélie Cortéjade, Martin Sordet, Loïc Spinner et Alexandre Bergé. Egalement, je remercie toutes les personnes des coins café, en particulier Anne Bonhommé, Guy Raffin,

Marie Hangouët, Marie Martin et Corinne Sanglar. Merci d'apporter une ambiance conviviale et motivante chaque jour. Un grand merci également à toutes les personnes faisant partie des services que l'on appelle « supports » de l'ISA, qui grâce à leur travail quotidien nous permettent de faire nos recherches dans de très bonnes conditions. Je ne vais pas pouvoir citer toutes les personnes que j'ai côtoyées depuis 2005 à l'ISA, mais je remercie chacune d'elles pour leur coup de main, leur sourire, les discussions coin de table, bref, tous les moments agréables que j'ai pu vivre au cours de ma carrière.

Je souhaite également remercier le GRAIE (<http://www.graie.org/>), en particulier Elodie Brelot, Laëtitia Bacot et Vivien Lecomte, ainsi que tous les partenaires de SIPIBEL et de l'OTHU, grâce auxquels je participe depuis 10 ans à des projets pluridisciplinaires passionnants, notamment SIPIBEL, RISMEAU, FROG, CABRRES et RILACT. C'est dans le cadre de ce dernier projet qu'Alexandre Bergé a pu initier l'étude des tensioactifs et je leur en suis reconnaissante.

Merci enfin à mes parents qui m'ont toujours aidé à réaliser mes ambitions et à ma famille et belle famille pour tous les bons moments passés ensemble. Merci également à mes ami(e)s fidèles pour le lien précieux que l'on garde depuis si longtemps. Et bien sûr, un grand merci à mes deux chéris, Lionel, pour son enthousiasme, sa spontanéité et sa curiosité et Nicolas, pour son amour, sa clairvoyance et son soutien précieux depuis toutes ces années.

Table des matières

<i>Liste des Figures.....</i>	<i>16</i>
<i>Liste des Tableaux.....</i>	<i>21</i>
<i>Liste des Abréviations.....</i>	<i>24</i>
Introduction générale	27
1- <i>Surveillance des micropolluants dans l'environnement.....</i>	<i>27</i>
1.1- <i>Priorisation des micropolluants.....</i>	<i>27</i>
1.2- <i>Cas des tensioactifs.....</i>	<i>31</i>
2- <i>Objectif et contexte scientifique de la thèse.....</i>	<i>33</i>
3- <i>Plan du manuscrit.....</i>	<i>35</i>
4- <i>Valorisation</i>	<i>36</i>
4.1- <i>Publication de rang A.....</i>	<i>36</i>
4.2- <i>Communications internationales et nationales.....</i>	<i>36</i>
Chapitre I : Etude bibliographique	39
1- <i>Structures chimiques et usages des tensioactifs</i>	<i>41</i>
1.1- <i>Tensioactifs anioniques</i>	<i>46</i>
1.2- <i>Tensioactifs non-ioniques.....</i>	<i>50</i>
1.3- <i>Tensioactifs cationiques et amphotériques</i>	<i>53</i>
<i>Points clés de la partie 1.....</i>	<i>59</i>
2- <i>Transfert, devenir dans l'environnement et impact</i>	<i>60</i>
2.1- <i>LAS</i>	<i>62</i>
2.2- <i>AES et AS.....</i>	<i>65</i>
2.3- <i>APEO.....</i>	<i>68</i>
2.4- <i>BAC et DDAC</i>	<i>71</i>
2.5- <i>Tensioactifs peu recherchés dans l'environnement.....</i>	<i>74</i>
<i>Points clés de la partie 2.....</i>	<i>77</i>
3- <i>Analyse des tensioactifs dans les matrices environnementales.....</i>	<i>78</i>
3.1- <i>Préparation d'échantillons</i>	<i>82</i>
3.2- <i>Détection par LC-MS</i>	<i>97</i>
3.3- <i>Quantification par LC-MS.....</i>	<i>102</i>
<i>Points clés de la partie 3.....</i>	<i>107</i>
Chapitre II : Analyse par LC-MS/MS.....	109
1- <i>Molécules ciblées et standards analytiques</i>	<i>111</i>

1.1- Tensioactifs ciblés et homologues.....	111
1.2- Standards commerciaux.....	114
2- <i>Optimisation de la détection par LC-MS/MS</i>	115
2.1- Modes d'ionisation et transitions MRM.....	115
2.2- Conditions chromatographiques	123
2.3- Température de source d'ionisation	128
3- <i>Quantification par LC-MS/MS</i>	130
3.1- Caractérisation des étalons commerciaux par LC-MS	130
3.2- Contaminations des blancs instrumentaux.....	133
3.3- Paramètres et performances instrumentales de la méthode optimisée	135
<i>Principaux résultats du chapitre II</i>	137
Chapitre III : Préparation des échantillons environnementaux et validation des méthodes d'analyse	139
1- <i>Eau de surface</i>	141
1.1- Mise au point de l'étape de préconcentration.....	141
1.2- Etude de la contamination apportée par la préparation d'échantillon.....	148
1.3- Validation intralaboratoire de la méthode d'analyse.....	152
1.4- Etude de stabilité.....	157
2- <i>Sédiment</i>	164
2.1- Mise au point de l'étape d'extraction.....	164
2.2- Validation intralaboratoire de la méthode d'analyse.....	171
<i>Principaux résultats du chapitre III</i>	175
Chapitre IV : Application à des échantillons réels	177
1- <i>Matrices liquides</i>	179
1.1- Protocole et échantillons analysés	179
1.2- Blancs terrain	180
1.3- Eaux de rivière	183
1.4- Effluents de station d'épuration	190
2- <i>Matrices solides</i>	193
2.1- Protocole et échantillons analysés	193
2.2- Sédiments de rivière	194
2.3- Matières en suspension	200
2.4- Boues de station d'épuration.....	202
<i>Principaux résultats du chapitre IV</i>	205
Conclusions et perspectives.....	207
Références bibliographiques	213

<i>Annexe 1 : Noms, codes SANDRE, CAS RN et EC (liste non exhaustive).....</i>	<i>225</i>
<i>Annexe 2 : Spectres de fragmentation des tensioactifs et formules chimiques possibles</i>	<i>227</i>
<i>Annexe 3 : Pourcentage massique des tensioactifs ciblés dans les étalons non purs.....</i>	<i>241</i>
<i>Annexe 4 : Méthode d'analyse dans l'eau – Phase dissoute.....</i>	<i>242</i>
<i>Annexe 5 : Méthode d'analyse dans les sédiments.....</i>	<i>249</i>

Liste des Figures

Figure 1: Augmentation du nombre de produits chimiques enregistrés dans le CAS (Kümmerer et al. 2020).....	27
Figure 2: Exemple de composition chimique d'un shampoing.....	28
Figure 3: Les différentes sources et transports de micropolluants (Laperche 2016).....	29
Figure 4:Schéma de catégorisation/priorisation suggéré par le réseau NORMAN (Brack et al. 2017)	30
Figure 5: Les 20 substances chimiques les plus dangereuses parmi 71 couramment quantifiées dans les rivières du Royaume-Uni (Johnson et al. 2020).....	32
Figure 6: Nombre de données par famille de tensioactif (non-ionique (non-ioniq), anionique (-), cationique (+)) intégrées dans la base de Leonards et al. 2013	33
Figure 7: Structure et activités scientifiques et techniques du Réseau de Surveillance Prospective (Staub et al. 2019)	34
Figure 8: Structure du manuscrit	35
Figure 9: Représentation schématique des tensioactifs	41
Figure 10: Emulsion Huile/Eau (d'après Malassagne-Bulgarelli 2010).....	42
Figure 11: Représentation schématique des tensioactifs "Gemini" et exemples d' « espaceur » (adaptée de Brycki et al. 2017)	43
Figure 12: Agrégats susceptibles d'être formés en solution par les tensioactifs "Gemini" (Dauvergne 2010).....	43
Figure 13: Principales applications des tensioactifs (Vandeputte 2012).....	44
Figure 14: : Schéma de principe de remédiation de sol pollué par des tensioactifs (Mao et al. 2015) .	45
Figure 15: Structures et nomenclatures des isomères de position du LAS C11	47
Figure 16: Structures chimiques des DATS et iso-LAS (Lara-Martin et al. 2007).....	48
Figure 17: Exemples d'isomères de NP et OP (adaptée de Acir & Guenther 2018)	52
Figure 18: Représentation schématique de la perturbation causée par les ammonium quaternaires sur la membrane cytoplasmique (Source : https://courses.lumenlearning.com/microbiology/)	56
Figure 19: Principales sources et voies de rejet des tensioactifs (Wittmer et al. 2014).....	60
Figure 20: Pourcentage dans la fraction dissoute de tensioactifs dans des eaux usées urbaines (Berge et al. 2018).....	61

Figure 21: (a) Corrélation négative entre la concentration des LAS et le pourcentage en phase dissoute dans les eaux de surface (n = 28) (b) Concentration de chaque homologue (LAS C10 à C14) (Sakai et al. 2017).....	63
Figure 22: Mécanisme de biodégradation des LAS en milieu aérobie (Mungray & Kumar 2009)	64
Figure 23: Concentrations en AES C ₁₂ et C ₁₄ avec un nombre de groupements ethoxy allant de 0 à 9 dans 33 eaux usées traitées (Freeling et al. 2019)	67
Figure 24: Schéma des mécanismes de dégradation des APEO.....	68
Figure 25: Interactions entre les micropolluants et les matières en suspension selon leur charge (Margot et al. 2015).....	71
Figure 26: Compositions des homologues des BAC et DDAC dans des carottes de sédiments provenant de deux sites différents (Dai et al. 2018).....	73
Figure 27: Etapes d'optimisation d'une méthode LC-MS (Sargent 2013).....	80
Figure 28: Description d'une source d'ionisation par électro-nébulisation (électrospray) et des principales étapes de formation d'ions (Rondeau 2017)	81
Figure 29: Rendements d'extraction des AP et APEO en fonction de différentes phases solides (silices greffées C18, C8, nC18 (non-encappé) et polymériques (Oasis HLB et divinylbenzène (DVB)) et solvants d'élution (d'après DeArmond & DiGoregorio 2013)	86
Figure 30: Concentrations des composés d'intérêt dans de l'eau de rivière et de l'eau Milli-Q, avec ou sans filtration.. Les concentrations des échantillons sans filtration sont normalisés à 100% (Li et al. 2020).....	88
Figure 31: Schéma représentant certains types d'interactions entre les fonctions chimiques et la matière organique du sol (Poole 2013).....	89
Figure 32: Etapes d'extraction de substances chimiques de matrices solides (Subedi et al. 2015)	91
Figure 33: Rendements d'extraction des LAS C10 à C13, NP, NPEO et DEHP par ultrasons, en fonction (a) des solvants et (b) du temps d'extraction (Gonzalez et al. 2010).....	95
Figure 34: Schéma de principe du couplage chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS)	97
Figure 35: Evolution de l'intensité du pic de sulfathiazole dans la solution standard en fonction du débit compris entre 2 et 1000 µL/min (Roser 2018)	98
Figure 36: Rendement d'ionisation par ESI avec des solutions de même pH (pH = 3) et des sels tampons différents (adaptée de Krueve 2020).....	101
Figure 37: Schéma décisionnel de différents types d'étalonnage en matrice (adaptée de Diez et al. 2016).....	104
Figure 38: Les différents types de blancs du processus analytique (Szczepanska et al. 2018)	106

Figure 39: Schéma de principe du spectromètre de masse triple quadripôle (3200 QTrap™, Sciex®)	115
Figure 40: Principe du mode d'acquisition "product ion" sur un spectromètre de masse triple quadripôle (Hoffmann & Stroobant 2007)	117
Figure 41: Schémas de fragmentation et formules chimiques possibles (A) LAS-C10, (B) SDS	118
Figure 42: Schémas de fragmentation et formules chimiques possibles (A) OP ₇ EO, (B)TMDD	120
Figure 43: Spectres de fragmentation et formules possibles (A) BAC-C ₁₂ , (B) TEAQ-C ₁₆	121
Figure 44: Chromatogrammes des tensioactifs en ESI positive des méthodes (A) RP/éch. Anion et (B) C18	126
Figure 45: Chromatogrammes des tensioactifs en ESI négative des méthodes (A) RP/éch. Anion et (B) C18	127
Figure 46: Effet de l'augmentation de la température de source sur la réponse des tensioactifs	129
Figure 47: (A) Chromatogramme en full scan de l'étalon des LAS C10 à C13 et spectres de masse correspondant au (B) LAS C13, (C) LAS C12, (D) LAS C11 et (E) LAS C10	130
Figure 48: (A) Chromatogramme en full scan de l'étalon des C ₁₂ EO ₁₋₂ S et spectres de masse correspondant au (B) C ₁₂ EO ₀ S (SDS), (C) C ₁₂ EO ₁ S, (D) C ₁₂ EO ₂ S et (E) C ₁₂ EO ₃ S	132
Figure 49: (A) Chromatogramme en full scan de l'étalon des TEAQ-C ₁₆ et C ₁₇ et spectres de masse correspondant au (B) TEAQ-C ₁₆ , (C) TEAQ-C ₁₇ insat., (D) TEAQ-C ₁₇ sat.	133
Figure 50: Signal sur bruit des blancs analytiques composés d'eau MilliQ et eau Evian®	134
Figure 51: Comparaison des performances des trois cartouches SPE: Aires des pics chromatographiques des tensioactifs anioniques normalisées à 100	145
Figure 52: Comparaison des performances des trois cartouches SPE: Aires des pics chromatographiques des tensioactifs non-ioniques normalisées à 100	146
Figure 53: Comparaison des performances des trois cartouches SPE: Aires des pics chromatographiques des tensioactifs cationiques et zwitterionique normalisées à 100	147
Figure 54: Contamination apportée par l'étape de filtration et effet de la calcination préalable du filtre	149
Figure 55: Contamination apportée par le solvant de rinçage du système de filtration et effet de la calcination préalable des tubes d'élution	151
Figure 56: Cycle de vie d'une méthode d'analyse (Feinberg 2001)	152
Figure 57: Comparaison des LQ divisées par 2 et des concentrations moyennes dans les blancs méthode (tensioactifs anioniques)	154

Figure 58: Comparaison des LQ divisées par 2 et des concentrations moyennes dans les blancs méthode (tensioactifs cationiques)	155
Figure 59: Schéma des altérations possibles de l'échantillon liées aux différentes étapes d'un processus analytique (Seiler et al. 2008).....	157
Figure 60: Suivi de la concentration des LAS à 4 et 12°C, sur 7 jours	159
Figure 61: Suivi de la concentration des alkyl et alkyl ether sulfates à 4 et 12°C, sur 7 jours.....	160
Figure 62: Suivi de la concentration des tensioactifs cationiques à 4 et 12°C, sur 7 jours	161
Figure 63: Suivi de la concentration des TEAQ à 4 et 12°C, sur 7 jours (TEAQ C18 = TEAQ C ₁₈ +TEAQ C _{18 sat}).....	162
Figure 64: Suivi de la concentration des tensioactifs non-ioniques et zwitterioniques à 4 et 12°C, sur 7 jours (OPEO= somme des OP ₇₋₁₁ EO).....	163
Figure 65: Blancs méthode des protocoles testés pour l'extraction des sédiments.....	167
Figure 66: Aires des tensioactifs anioniques des extraits de sable de Fontainebleau dopés en fonction des types et/ou solvants d'extractions	169
Figure 67: Aires des tensioactifs non-ioniques des extraits de sable de Fontainebleau dopés en fonction des types et/ou solvants d'extractions	169
Figure 68: Aires des extraits de sable de Fontainebleau dopés des tensioactifs cationiques en fonction des types et/ou solvants d'extractions	170
Figure 69: Acteurs et organisation de la campagne EMNAT 2018 (INERIS 2020)	179
Figure 70: LQ, et concentrations moyennes dans blancs terrain (n=24) et des échantillons d'eaux de rivière (n=196) des LAS.....	182
Figure 71: LQ, concentration dans les blancs terrain et les échantillons d'eaux de rivière provenant des mêmes points de prélèvement du 1-laureth sulfate	182
Figure 72: Matrice de corrélation des tensioactifs dans les eaux de rivière (R package « corrplot » (Wei & Simko 2017)).....	185
Figure 73: Boxplots de distribution des lauryl et laureth sulfates dans les eaux de rivière.....	187
Figure 74: Boxplots de distribution des homologues des LAS dans les eaux de rivière.....	188
Figure 75: Distribution des LAS dans les effluents de station d'épuration	191
Figure 76: Comparaison des aires des étalons marqués dans les eaux de surface (ESU) et effluents de station d'épuration (STEU).....	192
Figure 77: Matrice de corrélation des tensioactifs dans les sédiments (R package « corrplot » (Wei & Simko (2017))).....	196

Figure 78: Boxplots de distribution des BAC dans les sédiments.....	197
Figure 79: Boxplots de distribution des LAS dans les sédiments	198
Figure 80: Pourcentages par rapport à la concentration totale en tensioactifs dans la fraction dissoute et particulaire d'un échantillon	201
Figure 81: Comparaison des aires des étalons marqués dans les sédiments (Sed) et les matières en suspension (MES).....	202
Figure 82: Calibration par ajouts dosés d'un échantillon de boues.....	204

Liste des Tableaux

Tableau 1: Structure générale et homologues les plus courants des LAS, AES et AS.....	46
Tableau 2: Pourcentages en homologues C12, C14 et C16 et degrés d'éthoxylation de SLES commerciaux (Im & Ryoo 2009)	49
Tableau 3: Structure générale et homologues les plus courants des APEO, cocamide MEA, et surfynol	50
Tableau 4: Composition des huiles et graisses classiquement utilisées pour des applications industrielles (ADEME 2001)	53
Tableau 5: Structure générale et homologues les plus courants des BAC, DDAC, alkylpyridinium, TEA esterquat et alkyl bétaine	54
Tableau 6: Aperçu des concentrations retrouvées en LAS (somme des homologues C10 à C13) dans les matrices environnementales entre 2000 et 2020.....	62
Tableau 7: Aperçu des concentrations retrouvées en AES et AS dans les matrices environnementales entre 2000 et 2020	66
Tableau 8: Résultat de modélisation (Mackay Level 1) de la distribution dans l'environnement des OPEO en fonction des grades d'éthoxylation (INERIS 2016)	69
Tableau 9: Aperçu des concentrations retrouvées en APEO dans les matrices environnementales entre 2000 et 2020	70
Tableau 10: Aperçu des concentrations retrouvées en BAC et DDAC dans les matrices environnementales entre 2000 et 2020	72
Tableau 11: Concentrations retrouvées dans les matrices environnementales en surfynol, cocamide, alkylpyridinium, TEAQ, amidoamine, et alkylbétaine.....	75
Tableau 12: Aperçu des méthodes d'extraction des tensioactifs anioniques, non-ioniques et cationiques dans les matrices environnementales liquides (continue page suivante).....	84
Tableau 13: Aperçu des méthodes d'extraction des tensioactifs anioniques, non-ioniques et cationiques dans les matrices environnementales solides (continue page suivante)	93
Tableau 14: Aperçu des méthodes d'analyse par LC-MS des tensioactifs anioniques, non-ioniques et cationiques dans les matrices environnementales (solides en gras) (continue page suivante)	99
Tableau 15: Tensioactifs anioniques ciblés	111
Tableau 16: Tensioactifs non-ioniques ciblés	112
Tableau 17: Tensioactifs cationiques et amphotérique ciblés	113

Tableau 18: Fournisseurs et références des standards analytiques des molécules ciblées et étalons marqués par un isotope ; en gris, ceux contenant un mélange d'homologues	114
Tableau 19 : Formule brute, masse mono-isotopique, mode d'ionisation, adduit majoritaire et sa masse sur charge (m/z).....	116
Tableau 20: Masses sur charge des ions parents et ions produits sélectionnés, Declustering Potential (DP) et Energie de Collision (CE) optimisées.....	122
Tableau 21: Temps de rétention (t_R) , rapport moyen des transitions MRM de quantification et de confirmation (MRM ratio), concentrations estimées dans les blancs analytiques et limites de quantification instrumentales.....	136
Tableau 22: Limites de quantification instrumentales, PNEC et facteurs de concentration à atteindre par ordre décroissant.....	141
Tableau 23: Greffons principaux des phases solides SPE testées et interactions avec les composés d'intérêt mises en jeu.....	143
Tableau 24: PNEC, limites de quantification (LQ) méthode eaux de surface comparées à la littérature, concentrations des blancs méthode et rendements d'extraction.....	153
Tableau 25: Domaine de linéarité, taux de recouvrement, répétabilité et précision intermédiaire	156
Tableau 26: PNEC et LQ dans les matrices solides environnementales retrouvées dans la littérature	165
Tableau 27: PNEC, limites de quantification (LQ) méthode sédiments comparées à la littérature, concentrations des blancs méthode et rendements d'extraction.....	172
Tableau 28: Domaine de linéarité, taux de recouvrement, répétabilité et précision intermédiaire	174
Tableau 29: Nombre d'échantillons positifs, fréquence de quantification, concentration moyenne et maximum et rapport concentration moyenne sur LQ des tensioactifs dans les blancs terrain	181
Tableau 30: Fréquence de quantification, concentrations moyennes et maximum des tensioactifs dans les eaux de rivière.....	184
Tableau 31: Fréquence de quantification et rapports entre les concentrations moyennes et maximum et les PNEC dans les eaux de rivière	189
Tableau 32: Fréquence de quantification, concentrations moyennes et maximum des tensioactifs dans les effluents de STEU.....	190
Tableau 33: Fréquence de quantification, concentrations moyennes et maximum des tensioactifs dans les sédiments.....	195
Tableau 34: Fréquence de quantification et rapports entre les concentrations moyennes et maximum et les PNEC dans les sédiments de rivière	199

Tableau 35: Fréquence de quantification, concentrations moyennes et maximum des tensioactifs dans les matières en suspension.....	200
---	-----

Tableau 36: Fréquence de quantification, concentrations moyennes et maximum des tensioactifs dans les boues de station d'épuration	203
--	-----

Liste des Abréviations

AES	Alkyléthersulfates
AF	Acide formique
ACN	Acétonitrile
APEO	Alkylphénols polyéthoxylés
AS	Alkylsulfates
BAC	Chlorure d'alkylbenzyl diméthyl ammonium ou benzalkonium
CAS	Chemical Abstract Service
CDEA	Cocamide DiEthanolAmine
CMC	Concentration Micellaire Critique
CMEA	Cocamide MonoEthanolAmine
DATS	Dialkyle tétralin sulfonates
DDAC	Chlorure de dialkyldiméthyl ammonium (noté aussi DADMAC)
DOEO	Dodécylphénols polyéthoxylés
ECHA	European Chemicals Agency
EDTA	Ethylènediaminetétraacétique
EMNAT	Campagne « Emergents Nationaux 2018 »
ESI	Ionisation par electrospray
EtAc	Acétate d'éthyle
INERIS	Institut national de l'environnement industriel et des risques
GC	Chromatographie Gazeuse
HAc	Acide acétique
LAS	Alkylbenzène sulfonate linéaires
LC	Chromatographie Liquide
LQ	Limite de Quantification
LLE	Extraction Liquide Liquide
MEA	Monoéthanolamine
MES	Matières en suspension
MeOH	Méthanol

MS	Spectrométrie de masse simple quadripôle
MS/MS	Spectrométrie de masse triple quadripôle (tandem)
m/z	Masse sur charge
NH ₄ Ac	Acétate d'ammonium
NPEO	Nonylphénols polyéthoxylés
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economique
OPEO	Octylphénols polyéthoxylés
PLE	Extraction par liquide pressurisé
PNEC	Predicted No-Effect Concentration
REACH	Registration, Evaluation, Authorization and restriction of Chemicals
SADP-DMA	StearAmiDoPropyl DiMethylAmine
S/B	Signal sur bruit
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate ou Sodium Lauryl Sulfate
SLE	Extraction Solide Liquide
SLES	Sodium Lauryl Ether Sulfate
SPE	Extraction sur phase solide
STEU	Station de traitement des eaux usées
TEAQ	Triethanolamine esterquat ou TEA esterquat
TMDD	2,4,7,9-Tetramethyl-5-decyne-4,7-diol (nom commercial: surfynol 104®)
UAE	Extraction assistée par ultrasons
uma	Unité de masse atomique

Introduction générale

1- Surveillance des micropolluants dans l'environnement

1.1- Priorisation des micropolluants

Depuis la révolution industrielle, les développements de la chimie ont transformé des secteurs entiers de l'économie mondiale, apportant souvent de grands avantages à la société et à la qualité de vie. Le nombre de nouveaux produits chimiques augmente, le registre du Chemical Abstract Service étant passé de 20 millions à 156 millions de produits chimiques entre 2002 et 2019 (Escher et al. 2020) (Figure 1).

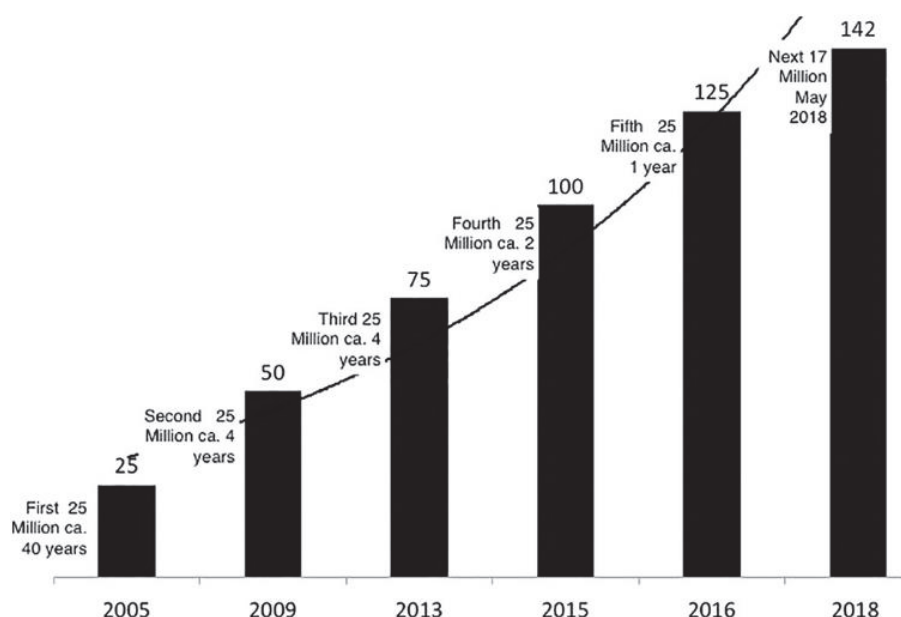


Figure 1: Augmentation du nombre de produits chimiques enregistrés dans le CAS (Kümmerer et al. 2020)

Dans les pays où les données sont accessibles, comme aux États-Unis et en Europe, le nombre de produits et substances chimiques sur le marché se situerait entre 75 000 et 140 000 (Johnson et al. 2020). En 2019, l'agence européenne des produits chimiques (en anglais : European Chemicals Agency, ECHA) a publié son « univers chimique » qui comprend 21 000

substances enregistrées dans le cadre du programme REACH (ECHA 2019). De plus, les nouveaux produits chimiques deviennent de plus en plus complexes (par exemple, la stéréochimie, les groupes fonctionnels...) et les formulations contiennent des mélanges d'éléments et de molécules (Figure 2), qui sont finalement disséminés et/ou accumulés partout, y compris dans les déchets, les sols, l'eau, l'air, les plantes, les aliments, les animaux et le corps humain (Kümmerer et al. 2020).

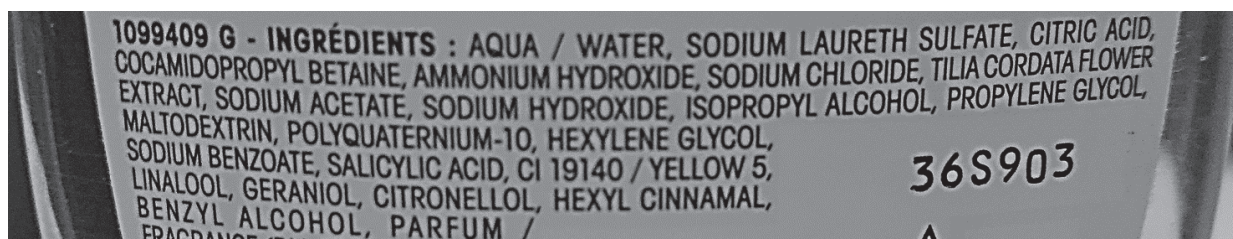


Figure 2: Exemple de composition chimique d'un shampoing

L'impact de ces milliers de composés sur la santé humaine et animale est maintenant avéré. Des produits chimiques et des pesticides ont déjà été responsables de dégradation de l'environnement. Parmi les exemples historiques, on peut citer le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), les polychlorobiphényles (PCB) et un anti-inflammatoire toujours utilisé, le diclofénac (Johnson et al. 2020). Les sources de ces micropolluants (Chèvre & Erkman 2011) sont multiples, à la fois industrielles, domestiques et agricoles, ponctuelles et diffuses (Figure 3). Le fait que les systèmes biologiques puissent être exposés à d'innombrables facteurs de stress chimiques, dont seul un petit nombre est réglementé, pose de nombreuses questions actuellement sans réponse concernant les risques (Daughton 2004).

Depuis les années 1970, l'impact de la pollution chimique s'est concentré principalement sur les listes de "polluants prioritaires", que l'on peut qualifier de classiques, en particulier ceux qui sont appelés "persistants, bioaccumulables et toxiques" (PBT) ou "polluants organiques persistants" (POP). Trois critères ont été utilisés pour sélectionner ces polluants : (1) posséder une stabilité structurelle (persistance) ; (2) être lipophiles et donc plus aptes à traverser passivement les membranes cellulaires, ce qui entraîne une concentration et une accumulation dans les lipides et les graisses (bioconcentration entraînant une bioaccumulation via la chaîne alimentaire) ; et (3) posséder une toxicité aiguë ou chronique en soi (Daughton 2004).

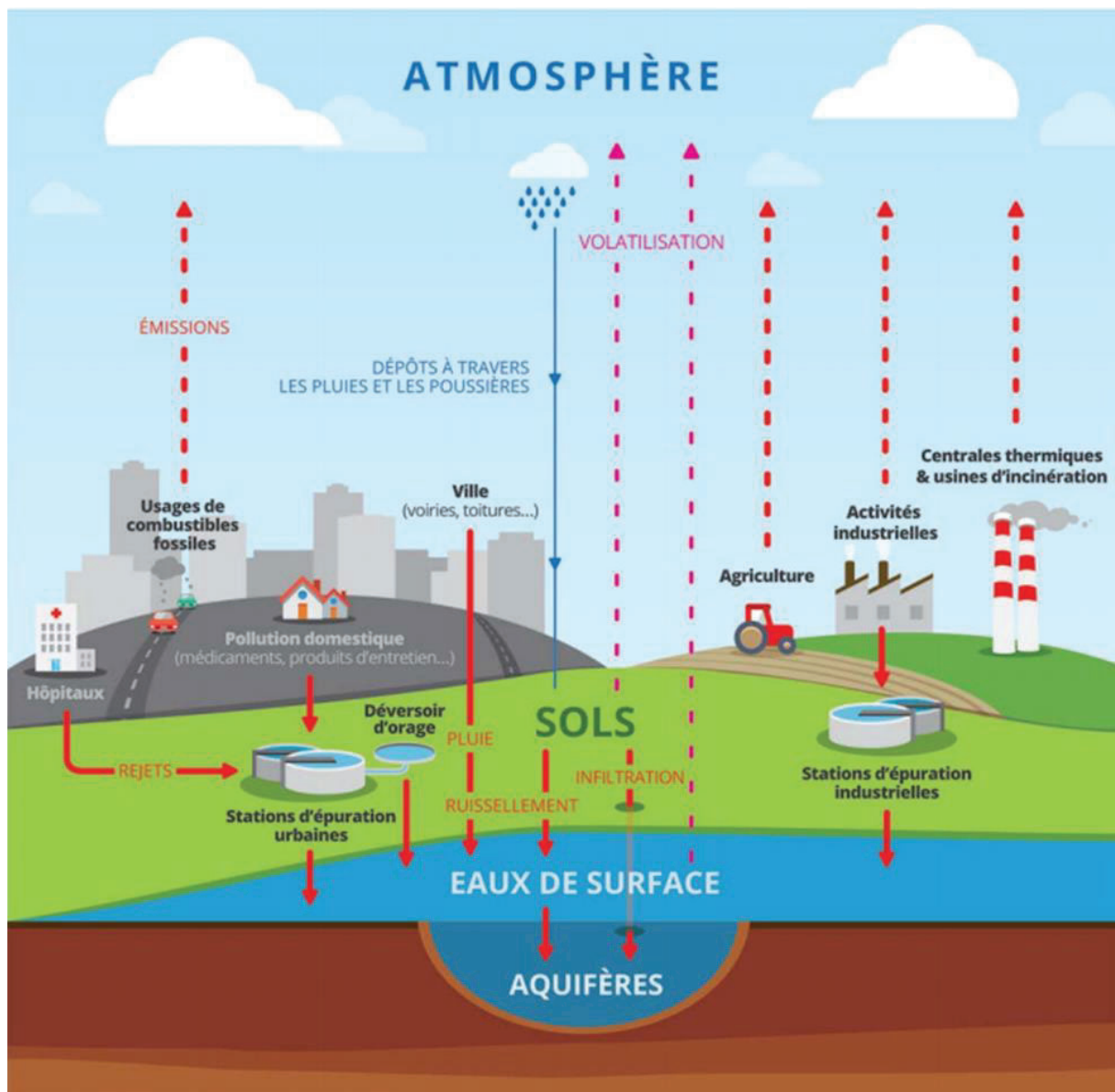


Figure 3: Les différentes sources et transports de micropolluants (Laperche 2016)

Mais nous savons maintenant que ces critères ne sont pas suffisants (Matthies et al. 2016). En effet, en ce qui concerne la persistance environnementale, il existe un grand nombre de polluants qui sont acheminés vers les eaux réceptrices par les stations d'épuration des eaux usées et dont le rejet continu peut leur conférer une "pseudo-persistance". Quel que soit leur temps de demi-vie, ils sont observés constamment dans certains milieux aquatiques simplement parce que leur dégradation est compensée par un réapprovisionnement continu. C'est le cas par exemple du paracétamol qui, malgré des abattements en station d'épuration supérieurs à 90 %, est quantifié dans les eaux de rivière à des concentrations de l'ordre de la dizaine de ng/L (Dulio

& Morin 2009). La lipophilie n'est pas non plus un critère exclusif puisque les produits chimiques peuvent accéder aux domaines intracellulaires par des mécanismes qui ne reposent pas sur la diffusion passive favorisée par la liposolubilité. De plus, les données concernant la toxicité et l'écotoxicité sont insuffisantes. Selon Landrigan et al. 2018, moins de la moitié des substances produites en grande quantité ont été soumises à des tests de toxicité, et l'évaluation rigoureuse des nouveaux produits chimiques avant leur mise sur le marché n'est devenue obligatoire qu'au cours des dix dernières années et dans quelques pays à revenu élevé seulement. Enfin, aujourd'hui, on prend de plus en plus conscience que nous sommes exposés à un véritable cocktail de produits chimiques (Escher et al. 2020), dont seule une fraction a été identifiée et dont la toxicité est impossible à prévoir compte-tenu des effets synergiques ou antagonistes que peuvent avoir ces molécules présentes simultanément.

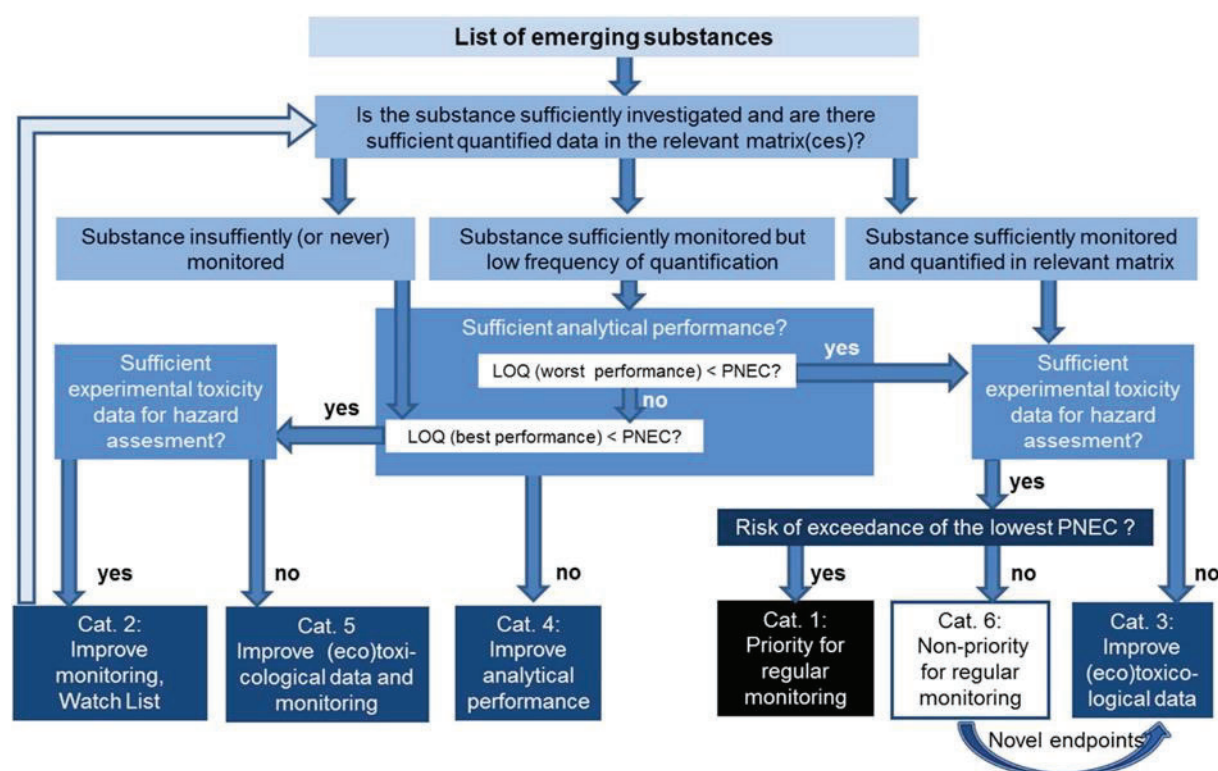


Figure 4: Schéma de catégorisation/priorisation suggéré par le réseau NORMAN (Brack et al. 2017)

Cette problématique est bien connue maintenant et a donné lieu à l'élaboration de différentes méthodologies de priorisation des micropolluants. L'une d'entre elles a été développée par le Working Group « Prioritisation of Emerging Substances » du réseau européen NORMAN (www.norman-network.net) et a été utilisée dans les études prospectives réalisées en 2012 et

2018 en France, sur les contaminants émergents dans les milieux aquatiques. Ces campagnes ont été nommées « campagne exceptionnelle » et « campagne Emergents Nationaux (EMNAT) ». Ces études s'intègrent dans les travaux du plan d'action national pour lutter contre la pollution des milieux aquatiques appelé Plan Micropolluants. Celui-ci souligne la nécessité de surveiller des substances non réglementées à ce jour au niveau communautaire afin d'anticiper et définir les substances spécifiques nationales pour lesquelles des actions doivent être engagées. Par rapport aux autres méthodes de priorisation qui visent seulement une hiérarchisation de toutes les substances candidates, la méthode de NORMAN couple l'exercice de hiérarchisation avec une distribution des substances candidates en catégories d'action, ce qui permet de gérer des niveaux d'information différents sur les substances et de ne pas laisser de côté les substances pauvres en données (Dulio & Andrès 2012). Ainsi, comme on peut le voir Figure 4, l'analyse chimique est au cœur de cette stratégie, les performances analytiques devant être en accord avec l'écotoxicité intrinsèque des substances surveillées, afin d'obtenir des données d'occurrence dans l'environnement pertinentes.

1.2- Cas des tensioactifs

Dans un article récent (Dulio et al. 2018), Valeria Dulio, secrétaire exécutif du réseau NORMAN, met en avant le besoin de données dans les milieux aquatiques. Si le nombre d'articles concernant les produits phytopharmaceutiques et pharmaceutiques est en pleine expansion, il y en a beaucoup moins sur d'autres catégories de polluants, notamment les biocides. Selon Johnson et al. 2020, l'orientation de la recherche sur les produits chimiques dans l'environnement n'est pas nécessairement cohérente avec leur risque relatif. Sur une liste de 20 substances chimiques les plus dangereuses présentes dans les rivières britanniques, les publications relatives à leur risque environnemental, entre 2015 et 2019, varient entre 7 531 pour le plomb et seulement 2 pour les alkyléthersulfates (AES) ou sulfates d'alcools gras éthoxylés, une famille de tensioactifs anioniques (Figure 5). Parmi les 10 substances les plus dangereuses, se trouvent d'autres tensioactifs anioniques, les alkylbenzènes sulfonates linéaires (LAS (Linear Alkylbenzene Sulfonate)), pour lesquels peu de données sont également publiées au Royaume Uni.

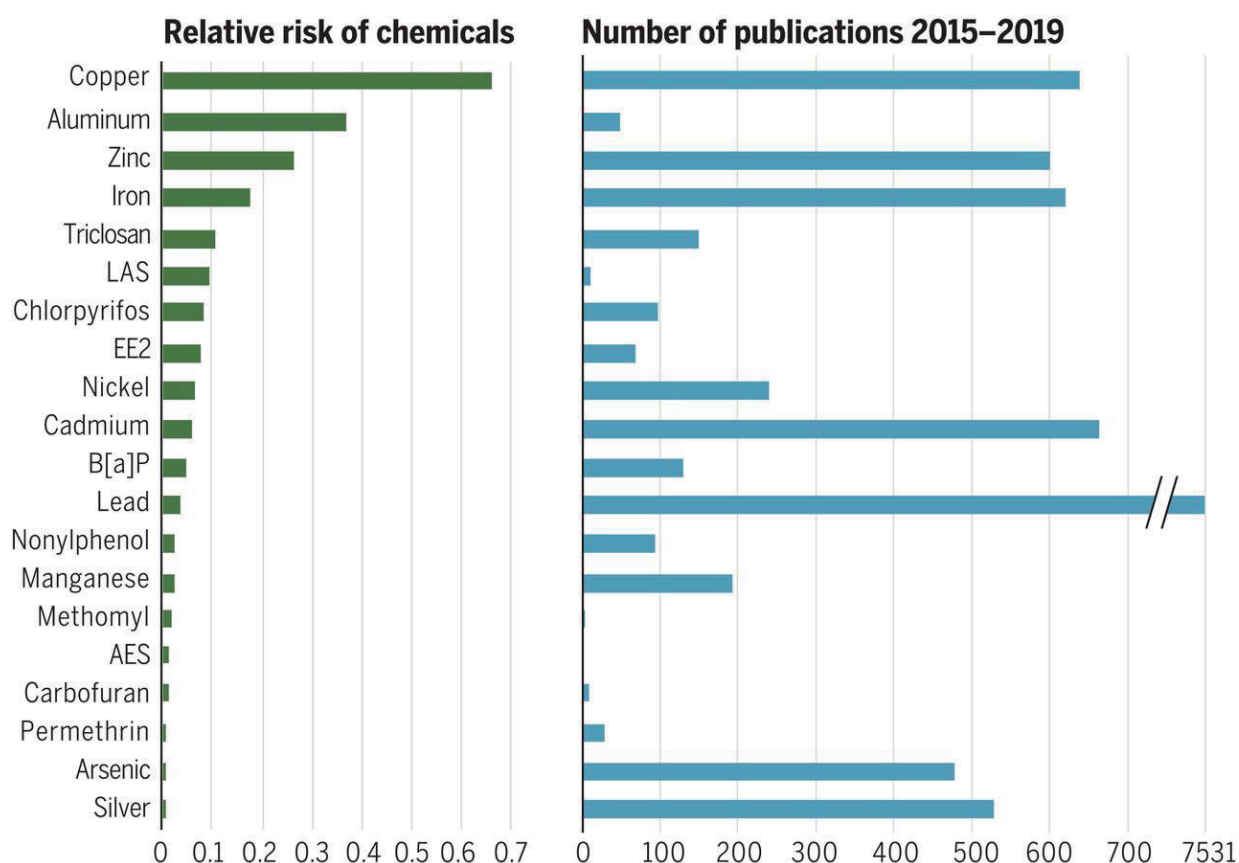


Figure 5: Les 20 substances chimiques les plus dangereuses parmi 71 couramment quantifiées dans les rivières du Royaume-Uni (Johnson et al. 2020)

Une base de données sur les tensioactifs dans les matrices environnementales (eau usée, eau de surface, sédiment, boue, biote), couvrant la période 1970-2005, a été créée par Leonards et al. 2013, et est accessible en ligne (<https://www.erasm.org/index.php/environmental-analysis-data>). Cette base révèle l'hétérogénéité du nombre de données selon les catégories de tensioactifs. Huit familles de tensioactifs apparaissent dans cette base (Figure 6). Trois représentent à elles seules les $\frac{3}{4}$ des données : les LAS, les alkylphénols éthoxylés (APEO) et les nonylphénols (NP) qui sont les produits de dégradation des nonylphénols éthoxylés. Ces huit familles ne constituent qu'une faible partie de l'ensemble des tensioactifs.

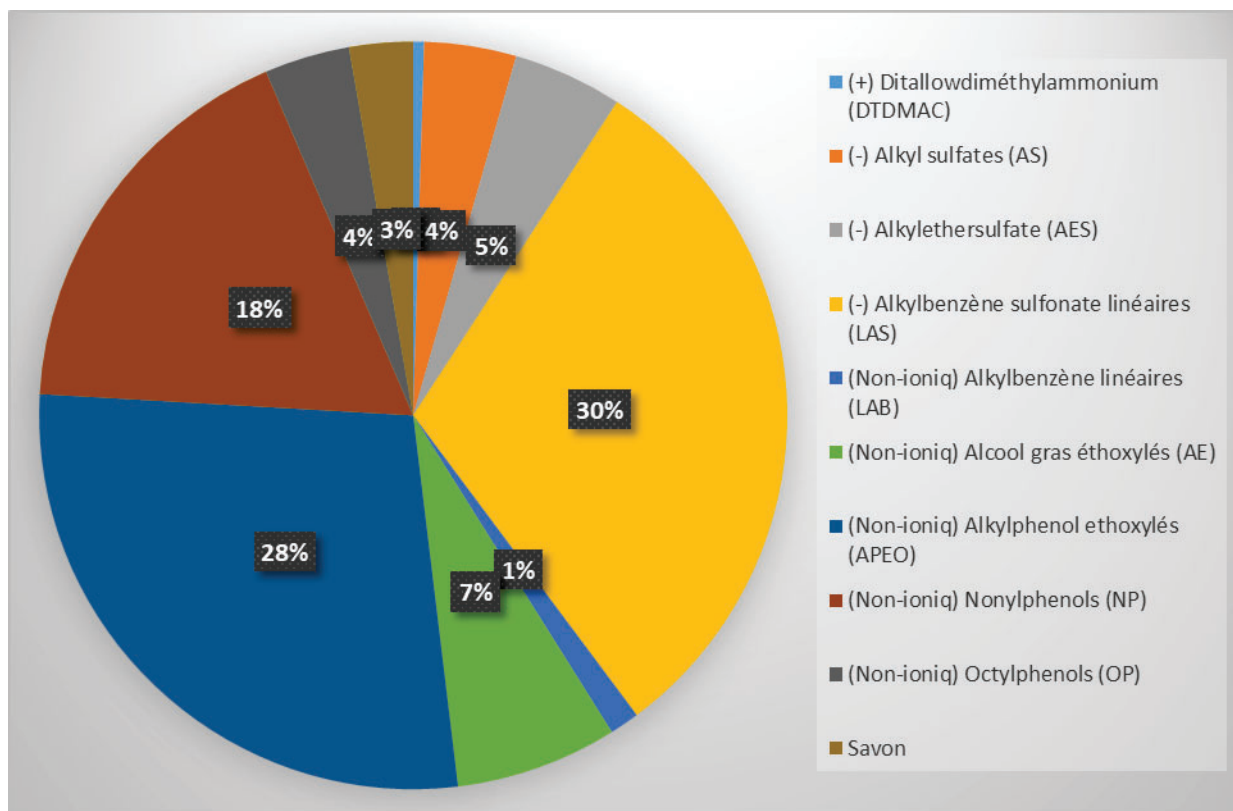


Figure 6: Nombre de données par famille de tensioactif (non-ionique (non-ioniq), anionique (-), cationique (+)) intégrées dans la base de Leonards et al. 2013

2- Objectif et contexte scientifique de la thèse

L'objectif de cette thèse est donc de développer des méthodologies analytiques sensibles et fiables qui permettent de combler ce manque de connaissance concernant l'occurrence des tensioactifs dans l'environnement. Dans ce but, il est important au préalable de sélectionner des substances pertinentes à rechercher dans l'environnement, et également d'appliquer les protocoles mis au point sur des échantillons de terrain afin d'évaluer si les performances analytiques correspondent aux concentrations recherchées. De plus, afin de limiter le nombre d'analyses, ces méthodes doivent couvrir une large gamme de tensioactifs.

La sélection de substances tensioactives d'intérêt de notre étude se base sur des travaux réalisés en amont de cette thèse, dans le cadre du projet RILACT (Risques et Leviers d'Actions relatifs aux rejets de médicaments, détergents et biocides dans les effluents hospitaliers et urbains), financé par l'Office Français de la Biodiversité (OFB).

Notre tâche consistait alors à développer des méthodes d'analyse dans les eaux usées des principaux détergents et biocides utilisés dans les établissements de soin (Wiest 2017). Notre choix s'est basé sur une liste des détergents les plus utilisés du centre hospitalier partenaire de ce projet, le Centre Hospitalier Alpes Léman (CHAL). Les résultats de cette étude ont été valorisés dans deux publications : Bergé et al. 2016 et Bergé et al. 2018. Pour la thèse, nous avons repris cette liste à laquelle nous avons ajouté des familles de tensioactifs très utilisés, des laureth sulfate, des esterquats et un tensioactif Gemini, le Surfynol.

Quant à l'application des méthodologies analytiques, elle fait partie intégrante de la campagne « Emergents Nationaux 2018 » (EMNAT 2018), mise en œuvre par le Réseau national de Surveillance Prospective (RSP) (Figure 7).

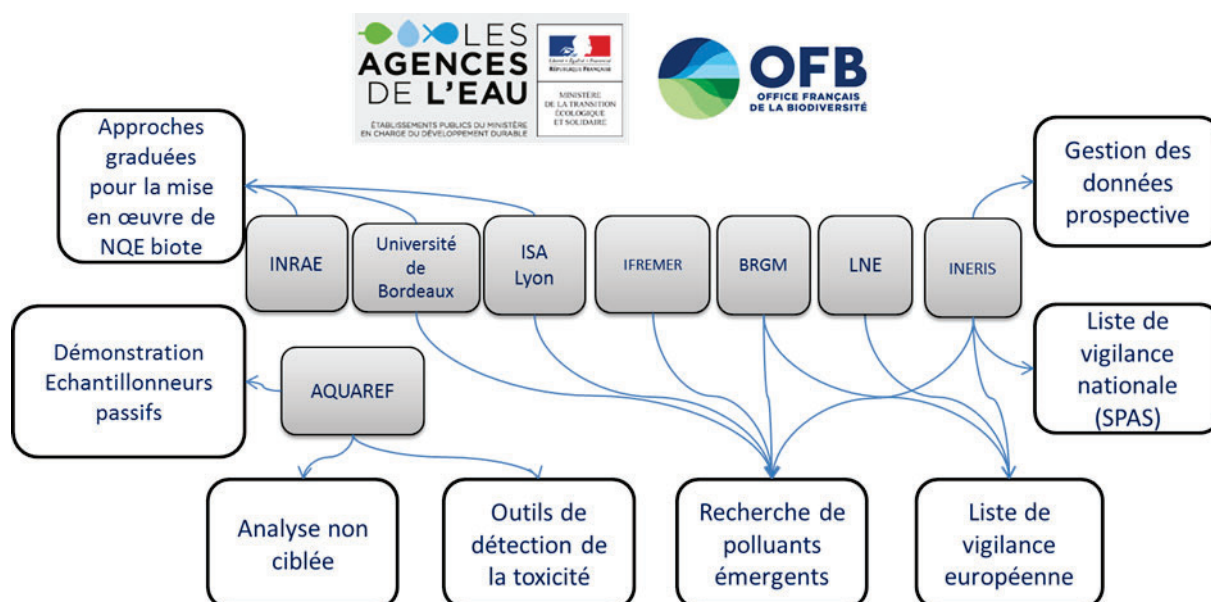


Figure 7: Structure et activités scientifiques et techniques du Réseau de Surveillance Prospective (Staub et al. 2019)

Ce réseau a été mis en place en France en 2016 et comprend un sous-ensemble des sites du réseau de surveillance de la Directive Cadre sur l'Eau. Ces sites, sélectionnés pour refléter un large éventail de pressions, industrielles, urbaines ou agricoles, sont consacrés à l'étude des contaminants chimiques émergents ciblés, dont fait partie EMNAT 2018, et à la validation d'outils de surveillance nouveaux et innovants tels que l'échantillonnage passif ou le screening non-ciblé (Staub et al. 2019).

3- Plan du manuscrit

Ce manuscrit comprend quatre chapitres organisés comme suit (Figure 8) :

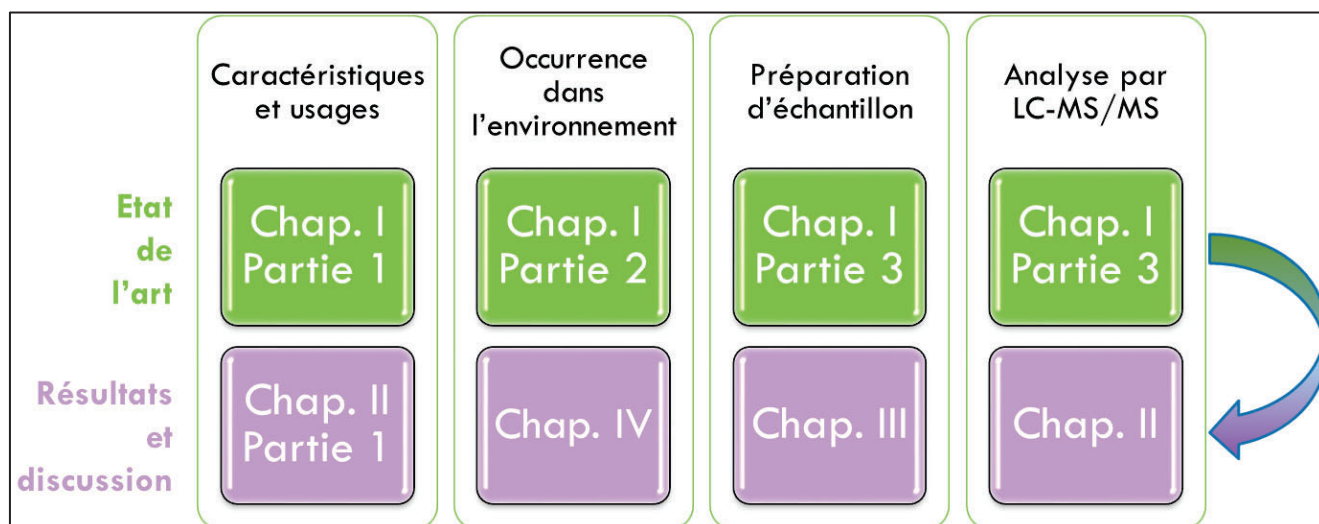


Figure 8: Structure du manuscrit

Le chapitre I est une revue bibliographique comprenant 3 parties : la 1^{ère} présente les caractéristiques physico-chimiques et usages des tensioactifs ; la 2^{ème} résume les données concernant le transfert, le devenir et l'impact des tensioactifs dans l'environnement. La 3^{ème} et dernière partie présente les méthodologies développées pour leur analyse dans les matrices environnementales.

Le chapitre II présente l'optimisation de la méthode d'analyse de 27 substances tensioactives par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), du choix des étalons à l'évaluation des performances analytiques de la méthode LC-MS/MS développée, en passant par l'optimisation du signal par spectrométrie de masse.

Le chapitre III présente le développement de la préparation d'échantillons des tensioactifs pour l'analyse, par LC-MS/MS, de matrices environnementales liquides et solides, ainsi que la validation des protocoles finalisés.

Enfin, le chapitre IV présente l'application des protocoles d'extraction et analyse validés à des échantillons prélevés dans le cadre de la campagne Emergents Nationaux (EMNAT) 2018 : eaux de rivières, eaux traitées de stations d'épuration, sédiments de rivière, matières en suspension et boues de station d'épuration.

4- Valorisation

4.1- Publication de rang A

Wiest L, Giroud B, Assoumani A, Lestremau F, Vulliet E, A multi-family offline SPE LC-MS/MS analytical method for anionic, cationic and non-ionic surfactants quantification in surface water, Talanta, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122441>

4.2- Communications internationales et nationales

Assoumani A, Lestremau F, Ferret C, Lepot B, Budzinski B, Dévier M-H, Labadie P, Le Manach K, Pardon P, **Wiest L**, Vulliet E, Monitoring of 53 contaminants of emergent concern: occurrence in effluents, sludges, and surface waters upstream and downstream of 7 wastewater treatment plants, International Conference on Emerging Contaminants in Wastewaters (ICECW 2021), Madrid (Espagne) 25-26 mars 2021 (oral)

Assoumani A, Lestremau F, Ferret C, Lepot B, Budzinski B, Dévier M-H, Labadie P, Le Manach K, Pardon P, **Wiest L**, Vulliet E, A nation-wide monitoring campaign of 53 contaminants of emergent concern in surface waters and sediments (EMNAT 2018): occurrence and PNEC exceedance evaluation, SETAC Europe 31st annual meeting (virtual) 3-6 mai 2021 (oral)

Assoumani A, Lestremau F, Ferret C, Lepot B, Salomon M, Budzinski H, Dévier M-H, Labadie P, Le Menach K, Pardon P, **Wiest L**, Vulliet E, Staub P-F, Nation-wide monitoring of 53 contaminants of emergent concern in surface waters and sediment (EMNAT 2018): occurrence and PNEC exceedance evaluation, International Conference on Environmental & Science Technology (CEST 2021), Athènes (Grèce), 01-04 septembre 2021 (poster)

Wiest L, Giroud B, Assoumani A, Lestremau F, Vulliet E, A Multi-Family Offline Spe Lc-Ms/Ms Analytical Method for Anionic, Cationic and Non-Ionic Surfactants in Surface Water, International Conference on Environmental Analytical Chemistry (ICEAC 2021), Rome (Italie) 16-17 septembre 2021 (oral)

Chapitre I : Etude bibliographique

Cette étude bibliographique se compose de 3 parties :

Dans la partie 1, sont d'abord présentées les caractéristiques physico-chimiques des tensioactifs, puis les structures chimiques et usages des tensioactifs anioniques, non-ioniques et cationiques sont détaillés.

La partie 2 présente les connaissances actuelles quant au transfert et devenir dans l'environnement des tensioactifs : dans un premier temps, celles concernant les familles de tensioactifs les plus étudiées, à savoir les alkylbenzènes sulfonates linéaires (LAS), les alkyl et alkyl ether sulfates (AS et AES), les alkylphénols éthoxylés (APEO) et les benzalkoniums (BAC), et dans un second temps, celles concernant les tensioactifs moins recherchés dans l'environnement.

Enfin, la partie 3 présente les différentes méthodologies utilisées pour l'analyse des tensioactifs dans l'environnement, de la préparation d'échantillon aux méthodes d'étalonnage, en passant par la détection par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS).

1- Structures chimiques et usages des tensioactifs

Qu'ils soient utilisés en tant que détergents ou biocides, les composés ciblés dans cette étude sont ce qu'on appelle des tensioactifs ou agents de surface, appelés en anglais surfactants (abréviation de SURFace ACTive AgeNTS), ce qui signifie qu'ils ont la propriété de diminuer les tensions interfaciales. Toutes les molécules tensioactives sont amphiphiles, c'est-à-dire qu'elles comportent deux parties de polarités différentes (Figure 9) :

- Une partie hydrocarbonée, apolaire, lipophile ; en général, le caractère hydrophobe augmente avec le nombre d'atomes de carbone et diminue avec le nombre d'insaturations.
- Une partie hydrophile, ou tête polaire, qui est constituée par un ou plusieurs groupements polaires, ioniques (anioniques, cationiques ou zwitterioniques) ou non ioniques. Les tensioactifs cationiques et anioniques ne sont pas stables sans sels. Ces molécules sont synthétisées sous forme de sels, principalement de sodium pour les anioniques et de chlore pour les cationiques. Concernant les sulfonates, il existe des sels de potassium, aluminium, etc... Une fois en solution, ils se dissocient instantanément et ce sont donc les molécules sous forme dissociées qui sont analysées.

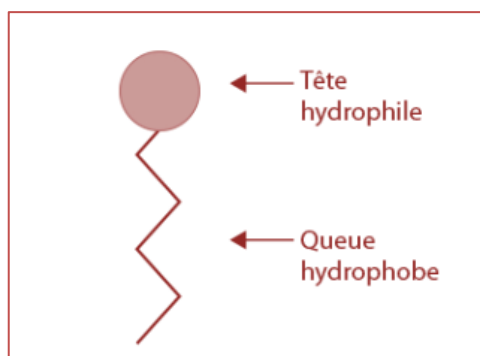


Figure 9: Représentation schématique des tensioactifs

Il existe plusieurs critères selon lesquels les tensioactifs peuvent être classés:

- Leur origine, naturelle ou synthétique : il existe notamment des biosurfactants qui sont des molécules tensioactives produites par des microorganismes (Otzen 2017). Les groupements hydrophobes sont issus de trois sources principales : la pétrochimie, les

huiles végétales et les graisses animales (Larpent 1995). Les graisses et les huiles donnent accès à des mélanges de chaînes hydrocarbonées aliphatiques linéaires de 8 à 18 atomes de carbone, de composition variable en fonction de l'origine. Les groupements hydrocarbonés d'origine pétrochimique peuvent comporter des variations de longueur de chaîne (nombre d'atomes de carbone) ou de ramifications en fonction du procédé de synthèse. Ce sont donc souvent des mélanges d'homologues, oligomères et isomères.

- La longueur de la partie lipophile : C_8 - C_{10} , agents mouillants, C_{12} - C_{16} , détergents, C_{18} - C_{22} , émulsifiants-adoucissants
- La nature de la partie polaire : non-ionique, anionique, cationique et amphotère (ou zwitterionique). C'est cette dernière classification qui est la plus souvent utilisée. Les composés non ioniques représentent 51% de la consommation en Europe, suivis des tensioactifs anioniques (40%) (Vandeputte 2012)

La tête hydrophile forme des liaisons hydrogènes et ioniques avec la phase hydrophile tandis que la queue hydrophobe forme des liaisons plus faibles, de type Van der Waals et des interactions hydrophobes avec la phase lipophile. Ce phénomène a pour effet de diminuer la tension interfaciale.

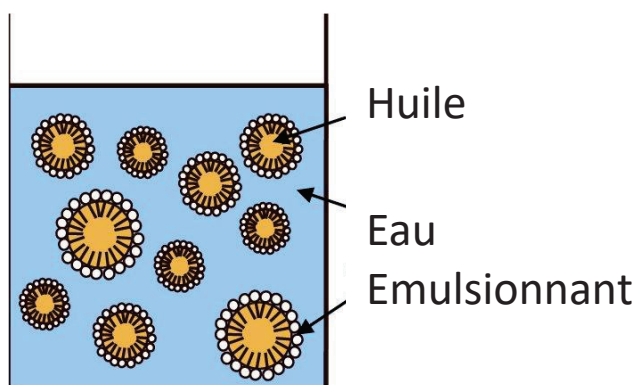


Figure 10: Emulsion Huile/Eau (d'après Malassagne-Bulgarelli 2010)

C'est ce phénomène qui permet de mélanger des liquides non miscibles tels que l'huile et l'eau (Figure 10). Cette propriété est également très utilisée dans l'industrie pharmaceutique afin de solubiliser dans des milieux aqueux des substances actives peu solubles dans l'eau. La concentration à partir de laquelle un composé tensioactif s'autoassocie sous forme de micelles en solution aqueuse est appelée concentration micellaire critique (CMC). La valeur de la CMC

est une caractéristique du tensioactif : elle dépend de la nature chimique du tensioactif (longueur de la chaîne lipophile, nature de la tête polaire) mais également de facteurs externes tels que la concentration en électrolytes ou la température (Larpent 1995).

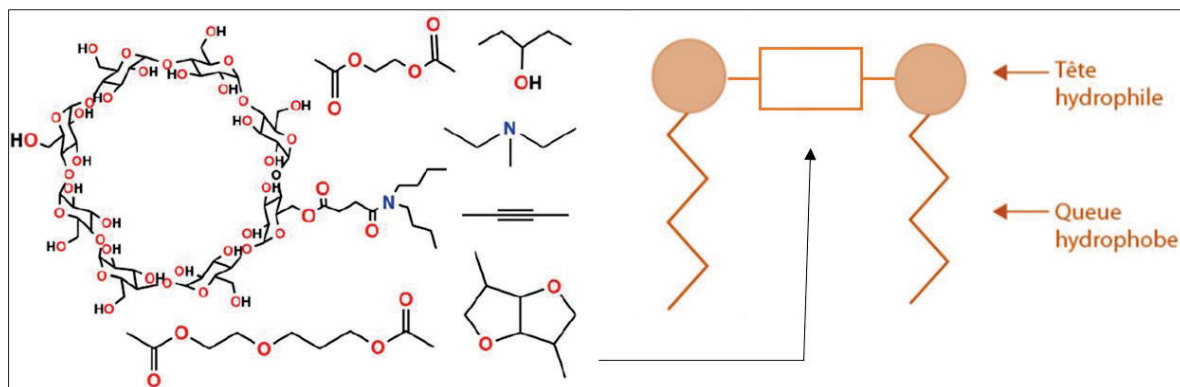


Figure 11: Représentation schématique des tensioactifs "Gemini" et exemples d'« espaceur » (adaptée de Brycki et al. 2017)

Dans les années 90, de nouveaux types de tensioactifs ont été synthétisés, appelés « Gemini ». Ces composés contiennent deux groupes de tête hydrophiles et deux queues hydrophobes reliés par un « espaceur » (spacer en anglais) au niveau des groupes hydrophiles (Figure 11). Cette structure particulière permet une diminution de la CMC et de la tension superficielle ainsi qu'une meilleure efficacité de solubilisation. En outre, contrairement aux tensioactifs conventionnels, les tensioactifs « Gemini » sont capables d'adopter plusieurs conformations à l'interface air-eau (linéaire, en fer à cheval ou à plat) (Dauvergne 2010) (Figure 12).

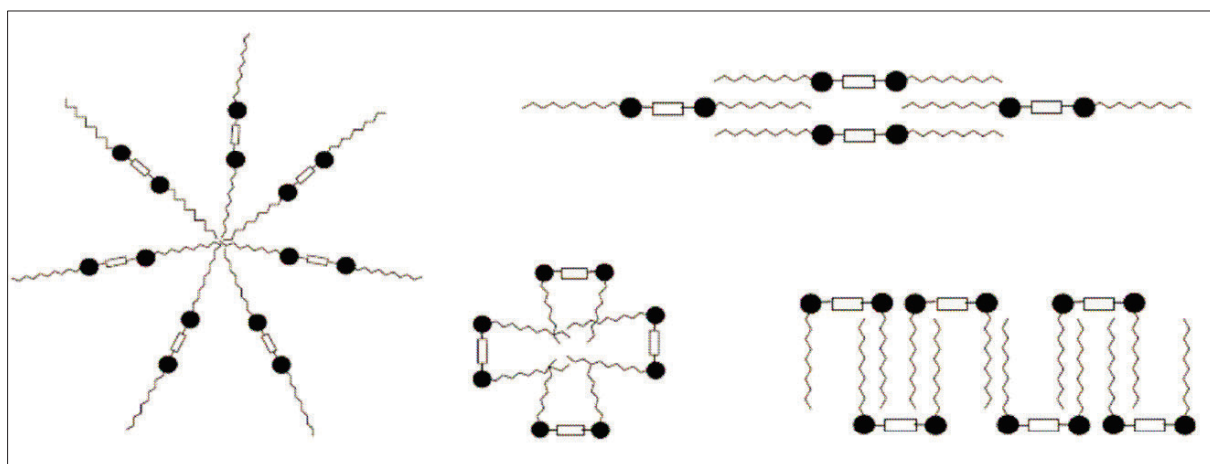


Figure 12: Agrégats susceptibles d'être formés en solution par les tensioactifs "Gemini" (Dauvergne 2010)

De par ces propriétés physico-chimiques particulières, les tensioactifs sont utilisés dans de très nombreux domaines (Figure 13). Le marché européen s'élève à plus de 2,5 millions de tonnes. Les principales applications sont dans la formulation de produits détergents domestiques ou industriels (linge, vaisselle, produits d'entretien), et de produits cosmétiques (shampoings, gels douche, dentifrices, crèmes, maquillage...) (Vandeputte 2012). Ils entrent également comme produits auxiliaires dans les procédés de fabrication de l'industrie et de l'agriculture : dans le traitement du cuir, la synthèse et formulation de plastiques et peintures, le nettoyage et dégraissage de matériaux, l'extraction de minerais, les opérations de l'industrie pétrolière, la formulation de produits phytosanitaires et engrais, le traitement du textile.

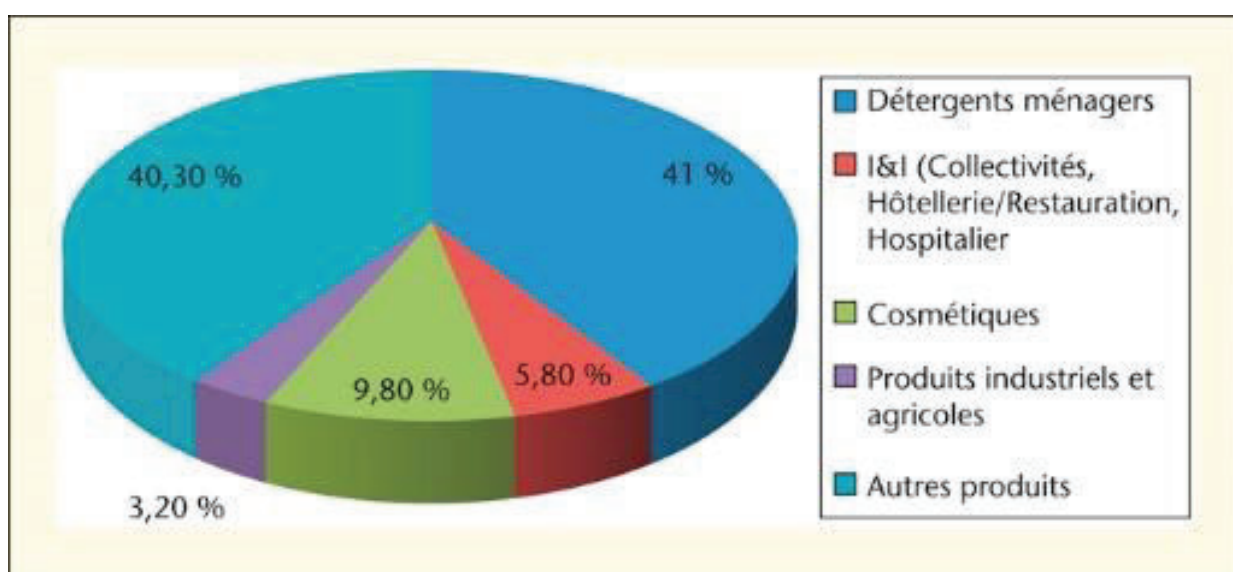


Figure 13: Principales applications des tensioactifs (Vandeputte 2012)

La capacité des tensioactifs à solubiliser des xénobiotiques relativement insolubles est bien connue et a été largement exploitée dans de nombreuses industries (Dollinger et al. 2018). L'utilisation des tensioactifs pour décontaminer les aquifères des eaux souterraines et dans les opérations de nettoyage des sols est ainsi relativement courante (Haigh 1996). Des tensioactifs anioniques et non ioniques ont été utilisés pour assainir des terres polluées par des huiles et des hydrocarbures ainsi que par de nombreux autres contaminants organiques. En effet, il a été démontré que certains tensioactifs, même à de très faibles concentrations, améliorent la biodégradation de certains composés dans le sol (Figure 14). Les interactions entre les polluants dans le sol sont très complexes et dépendent fortement d'une série de paramètres, notamment la concentration de surfactant dans l'eau du sol par rapport à la CMC, les caractéristiques

d'adsorption du surfactant et du polluant, la solubilité du polluant et le type de sol. Le paramètre le plus important est la CMC. En général, des concentrations inférieures à la CMC n'ont que peu ou pas d'effet sur la solubilisation des matériaux hydrophobes. Ce n'est que lorsque des micelles sont présentes qu'une désorption significative de ces polluants à la surface du sol se produit. Inversement, dans certaines conditions, généralement à des concentrations bien inférieures à la CMC, la présence d'un agent de surface peut renforcer l'adsorption des polluants hydrophobes sur le sol.

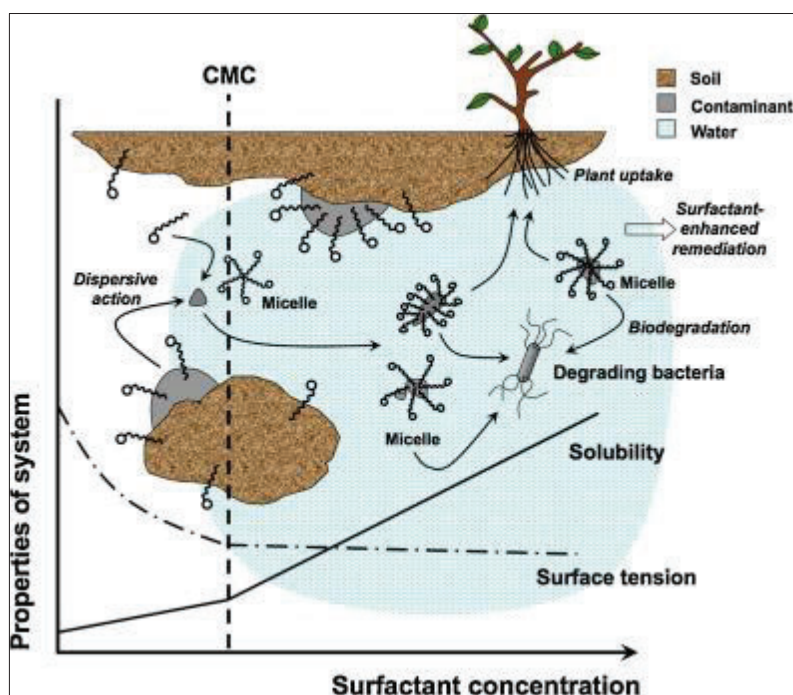


Figure 14: : Schéma de principe de remédiation de sol pollué par des tensioactifs (Mao et al. 2015)

Hari et al. 2005 et Pan et al. 2009 ont étudié l'impact de tensioactifs sur l'adsorption de substances pharmaceutiques et de l'acide perfluorooctanesulfonique (PFOS), respectivement. Ils révèlent que l'impact des tensioactifs est composé-dépendant et varie en fonction de la concentration en tensioactifs. De plus, les tensioactifs cationiques ont un impact beaucoup plus fort que les tensioactifs anioniques et non-ioniques. Il en est de même pour l'écotoxicité. Lewis 1990 a écrit une revue sur la toxicité de ces 3 familles de tensioactifs, sur des algues. Il en ressort que la toxicité varie de 3 ordres de grandeur en fonction des espèces d'algues étudiées, et sur une même espèce, elle varie de 4 ordres de grandeur selon le tensioactif. Il est donc difficile de généraliser et extrapoler les résultats, d'autant plus que la vérification analytique de la concentration d'exposition n'a pas souvent été réalisée. Cependant, une tendance apparaît, à

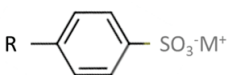
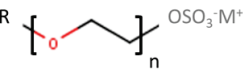
savoir qu'en général les molécules cationiques sont les plus toxiques, suivies par les non-ioniques, et enfin les anioniques. Compte-tenu des différences très marquées de propriétés entre ces grandes familles de tensioactifs, nous allons maintenant les étudier séparément.

1.1- Tensioactifs anioniques

Les tensioactifs anioniques comprennent une dizaine de familles de molécules (Larpent 1995). La partie anionique est soit un groupe carboxylate (COO^-), sulfonate (SO_3^-), sulfate (OSO_3^-) ou phosphate (PO_4^{3-}). Parmi ces familles, trois sont utilisées à des tonnages extrêmement élevés : les alkylbenzène sulfonates linéaires (LAS), les alkyléthersulfates ou alkyléthoxysulfates (AES) et les alkylsulfates (AS) (Tableau 1).

Ils font partie de la liste de produits chimiques à fort tonnage de l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques) disponible en ligne (<https://hpvchemicals.oecd.org/ui/Default.aspx>). Les substances de cette liste sont produites ou importées à des niveaux de plus de 1000 tonnes par an. Plus précisément, d'après les données de l'ECHA (ECHA 2019), les LAS C10 à C13 (CAS 68411-30-3) et les Sodium Lauryl Ether Sulfate (SLES) (CAS 68891-38-3) sont produits et/ou importés à des tonnages entre 100 000 et 1 000 000 en Europe, par an et le sodium lauryl sulfate, un des alkylsulfates les plus courants, à des tonnages entre 1 000 et 10 000.

Tableau 1: Structure générale et homologues les plus courants des LAS, AES et AS

Nom	Formule générale	Abréviation	Homologues les plus courants	N°CAS associés ($\text{M}^+=\text{Na}^+$)
Alkylbenzène sulfonate linéaire		LAS	$\text{R} = \text{C}_{10}\text{H}_{21}$ LAS C10 $\text{R} = \text{C}_{11}\text{H}_{23}$ LAS C11 $\text{R} = \text{C}_{12}\text{H}_{25}$ LAS C12 $\text{R} = \text{C}_{13}\text{H}_{27}$ LAS C13 $\text{R} = \text{C}_{14}\text{H}_{29}$ LAS C14 Mélange LAS C10 à C13 Mélange LAS C10 à C14	1322-98-1 27636-75-5 2211-98-5 26248-24-8 28348-61-0 68411-30-3 85117-50-6
Alkylethersulfate		AES	$\text{R} = \text{C}_{12}\text{H}_{25}$ Laureth sulfate $n=1$ 1-laureth sulfate $n=2$ 2-laureth sulfate Mélange $\text{R} = \text{C}_{12}\text{H}_{25}, \text{C}_{14}\text{H}_{29}$, $n=1$ à 6	15826-16-1 3088-31-1 (ou 9004-82-4) 68891-38-3
Alkylsulfate	$\text{R} - \text{OSO}_3^- \text{M}^+$	AS	$\text{R} = \text{C}_{12}\text{H}_{25}$ Lauryl sulfate	151-21-3

Ces tensioactifs anioniques sont largement utilisés dans diverses formulations de détergents, notamment lessives liquides et en poudre, liquide-vaisselle et tablette, lave-autos et nettoyeurs de surfaces dures. Les détergents et nettoyeurs industriels en contiennent également souvent, et ils sont également utilisés comme émulsifiant (par exemple, pour les herbicides agricoles et dans la polymérisation en émulsion) et comme agent mouillant dans un certain nombre d'applications industrielles. Contrairement aux LAS qui sont irritants, les AES et AS sont très présents dans les produits de soins personnels. Enfin, les AS sont également utilisés comme additifs lors de la production de plastiques et de peintures.

Le Tableau 1 présente les structures générales des LAS, AES et AS, ainsi que leurs homologues les plus courants. Ces molécules sont synthétisées associées à un contre-ion, principalement le sodium. Les autres contre-ions sont le potassium, le magnésium, l'ammonium, l'aluminium et moins couramment, des alkanolamines, éthanolamines et triéthanolamines, le calcium et le baryum.

Les produits commerciaux des LAS associés au sodium comprennent 5 homologues qui diffèrent par le nombre de groupes CH₂ dans la chaîne alkyle (C10-C14). La distribution relative de ces homologues varie de 5 à 10% pour C10, 40 à 45% pour C11, 35 à 40% pour C12, 10 à 15% pour C13 et 0 à 1% pour C14 (Schmidt et al. 2010). Chaque homologue a jusqu'à 6 isomères de position (Figure 15).

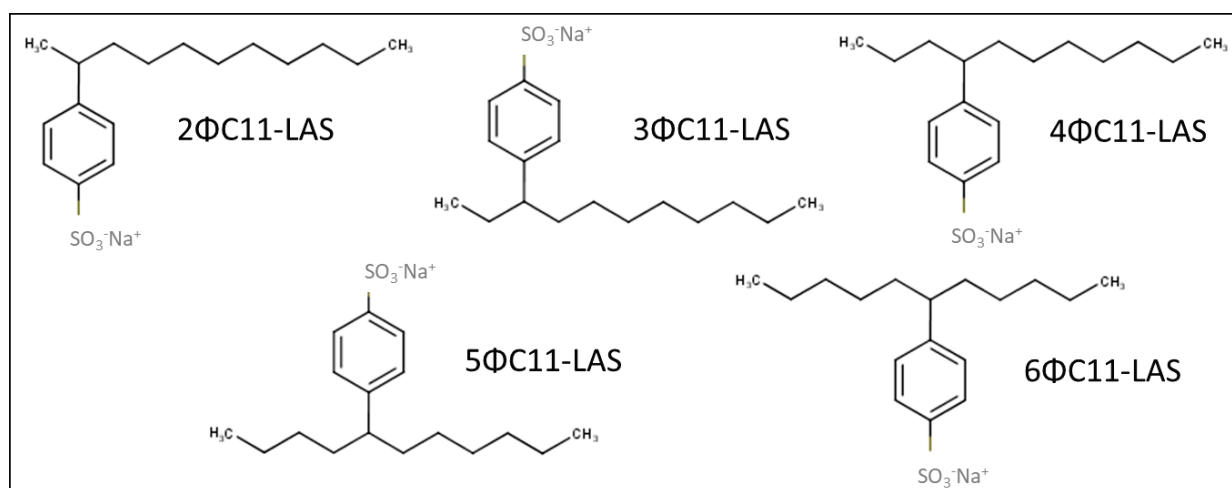


Figure 15: Structures et nomenclatures des isomères de position du LAS C11

Les LAS sont produits par sulfonation d'alkylbenzène linéaire (LAB - alkylbenzène linéaire), obtenu par alkylation de Friedel Crafts. Dans ce processus, différents catalyseurs sont utilisés, changeant le pourcentage d'isomères et, par conséquent, la viscosité, la solubilité et l'application du produit final. Lorsque l'acide fluorhydrique est utilisé comme catalyseur, le pourcentage de chaque isomère est presque équivalent (17 à 20 %) ; et lorsque le chlorure d'aluminium est utilisé, la majorité des isomères produits sont 2-phényle (2Φ) (30 %), suivi de 3Φ (20 %) et diminuant progressivement pour les isomères 4Φ à 6Φ (15 à 16%) (Silva et al. 2017). Finalement, cela conduit à 26 isomères majeurs de LAS. Les isomères de position dont le noyau aromatique est lié aux atomes de carbone les plus externes de la chaîne alkyle sont généralement appelés isomères externes, tandis que les isomères internes sont ceux dont le noyau benzénique est lié aux atomes de carbone internes de la chaîne alkyle.

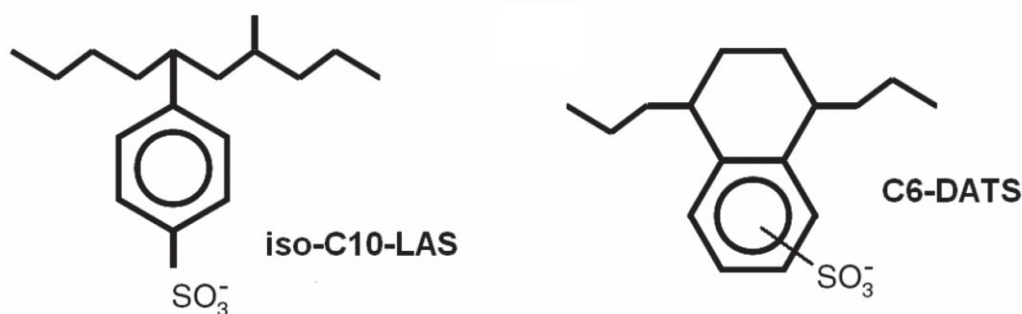


Figure 16: Structures chimiques des DATS et iso-LAS (Lara-Martin et al. 2007)

Les LAS commerciaux contiennent également des coproduits appelés dialkyle tétralin sulfonates (DATS) et iso-LAS. En raison de la formation possible d'isomères cis-trans et de la position relative de la partie alicyclique et du groupe sulfoné sur le cycle aromatique, 70 isomères majeurs des DATS peuvent être présents dans les LAS commerciaux (Di Corcia et al. 1999). Les iso-LAS sont des isomères de LAS ayant principalement une seule ramification méthyle dans l'un des différents points d'attache de la chaîne alkyle (Figure 16). Les concentrations relatives de DATS dans les formulations commerciales représenteraient 6 à 8 % des LAS, tandis que les concentrations relatives d'iso-LAS peuvent varier entre 3 et 6 %.

Les AES disponibles dans le commerce sont des mélanges complexes de tensioactifs contenant des homologues anioniques dont la longueur de la chaîne alkyle varie de 8 à 18 atomes de carbone. Chaque homologue peut présenter divers degrés d'éthoxylation allant de 0 à 9 groupes éthoxylés (EO) (Freeling et al. 2019). Les AES commerciaux peuvent contenir un mélange de 36 homologues, la composition dépendant de la sélection de la matière première d'alcool aliphatique et du degré d'éthoxylation souhaité (Tableau 2). La plupart des AES commerciaux sont produits sous forme de solutions aqueuses à faible ou forte concentration, par exemple 25-30% ou 68-70%. Le groupe alkyle saturé est essentiellement linéaire avec une petite quantité (<20%) de ramification (Cowan-Ellsberry et al. 2014).

Tableau 2: Pourcentages en homologues C12, C14 et C16 et degrés d'éthoxylation de SLES commerciaux (Im & Ryoo 2009)

Chain length	SLES-1		SLES-2		SLES-3A		SLES-3B		
	C12	C14	C12	C14	C12	C14	C12	C14	C16
EO 0 ^a	43.0	OL ^b	25.6	7.0	17.1	6.6	7.4	2.5	
EO 1	19.2	3.7	16.8	4.6	11.8	2.4	6.2	1.8	0.2
EO 2	10.0	1.9	14.3	3.0	12.6	2.5	12.4	3.1	0.3
EO 3	4.6	0.9	9.9	2.4	11.9	2.4	38.3	4.4	0.4
EO 4	OL	0.5	5.9	0.8	9.8	1.9	10.3	1.9	0.5
EO 5	OL	0.2	3.4	0.5	4.2	1.3	3.5	0.7	0.4
EO 6	0.6	0.1	2.0	0.3	4.8	0.9	0.9		0.2
EO 7	0.4	0.08	1.4	0.2	3.4	0.6	0.2		
EO 8	0.2	0.05	0.9	0.1	2.3	0.4	0.06		
EO 9	0.2	0.04	0.5	0.07	1.6	0.3	0.03		
EO 10	0.1	0.03	0.3	0.03	1.0	0.2	0.01		
Relative ratio of each alkyl chain			81.1	18.9	80.5	19.5	79.3	18.7	2.0
Relative ratio of SLS		32.6		23.7			9.9		
Average EO level		1.83		2.75			2.72		

^a Relative ratio of SLS in the presence of SLES.

^b OL means overlapped among peaks (12:4 + 12:5 + 14:0).

Conventionnellement, les AES sont notés "C_xEO_nS", où x est la longueur de la chaîne alkyle et n le degré d'éthoxylation, par exemple C₁₂EO₄S. La majorité des mélanges fabriqués sont des chaînes alkyles en C₁₂ à C₁₅ avec de 1 à 4 EO. Les Sodium Lauryl Ether Sulfate (SLES), dénommés sur le site de l'ECHA par « Alcohols, C12-14, ethoxylated, sulfates, sodium salts » correspondent aux AES avec x=12, 14 et un degré moyen d'éthoxylation entre 1 et 2,5. Im & Ryoo 2009 ont caractérisé quatre produits commerciaux de SLES par RMN et Chromatographie Liquide. Il en ressort que l'homologue C12 est très majoritaire (>79%). Cette étude met en avant un fort pourcentage de EO 0, qui correspond au lauryl sulfate non éthoxylé, c'est-à-dire un alkylsulfate. Enfin, les degrés d'oxydation moyens varient de 1,8 à 2,7.

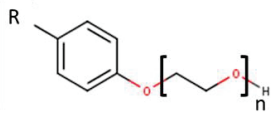
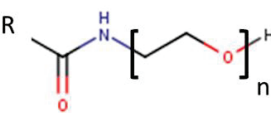
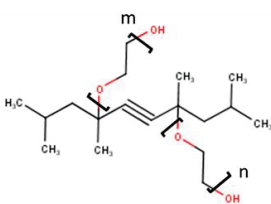
Enfin, les AS sont des sulfates d'alkyle non éthoxylés. Comme les AES, la longueur de la chaîne alkyle varie de 8 à 18 atomes de carbone. En général, les AS peuvent représenter jusqu'à 50%

d'un mélange technique d'AES, mais ils sont également produits et utilisés séparément des AES (Freeling et al. 2019). Les AS sont principalement utilisés dans les produits de nettoyage domestiques mais près de 17 % sont employés pour la formulation de shampoings, bains moussants, savons liquide, et d'autres produits de soins personnels. Dans ces derniers, les homologues C_{12} (sodium lauryl sulfate (très souvent abrégé SDS, pour Sodium Dodecyl Sulfate)) et C_{14} sont nettement majoritaires (Cowan-Ellsberry et al. 2014).

1.2- Tensioactifs non-ioniques

Dans le cas des composés tensioactifs non ioniques, l'hydrophilie est apportée par des groupements fonctionnels non chargés (alcool, éther, ester, amide) contenant des hétéroatomes tels que l'azote ou l'oxygène. Comme pour les tensioactifs anioniques, il existe de nombreuses familles de tensioactifs non-ioniques (Larpent 1995). Dans le Tableau 3, figurent trois de ces familles qui sont produites et/ou importées à plus de 1000 tonnes par an en Europe (ECHA 2019) : les alkylphénols polyéthoxylés (APEO), les mono-éthanolamines (MEA) d'acides gras polyéthoxylés (cocamide MEA (EC 931-330-1)), et les surfynols. Le caractère hydrophile de ces tensioactifs est lié à une chaîne de groupes éthoxylés et/ou à un groupement amide.

Tableau 3: Structure générale et homologues les plus courants des APEO, cocamide MEA, et surfynol

Nom	Formule générale	Abréviation ou nom usuel	Homologues les plus courants	N°CAS associés
Alkylphénol polyéthoxylé	 <p>Isomères ortho, méta, para</p>	APEO	R= C_8H_{17} Octylphénol R= C_9H_{19} Nonylphénol R= $C_{12}H_{25}$ Dodécylphénol R linéaire et/ou ramifié	9002-93-1 9016-45-9 9014-92-0
Mono-Ethanolamine d'acides gras polyéthoxylé		Cocamide MEA	R= $C_{11}H_{23}$ Lauramide MEA n=1	68140-00-1
Gemini Tetramethyl-decylne polyéthoxylé		Surfynol	n+m = 0 Surfynol 104® n+m = 1,3 Surfynol 420®	126-86-3 9014-85-1

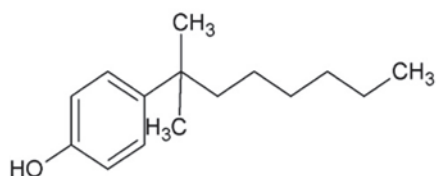
Le principal composé pour la synthèse des APEO est le phénol. En fonction de l'APEO souhaité, il existe trois voies possibles pour la synthèse de ces agents de surface non ioniques. Dans une alkylation du phénol avec du triméthylpentène, le produit est le 4-tert-octylphénol (OP). Dans une réaction catalysée par un acide avec un mélange d'isomères de nonène, le produit est un mélange de 4-nonylphénol (NP), et avec une charge oléfinique complexe contenant 70% d'alkyle en C₁₂, le produit est un mélange de 4-dodécylphénol (DP) (Acir & Guenther 2018). Il s'agit d'intermédiaires pour la synthèse d'APEO. La synthèse du NP et du DP donne déjà un mélange complexe constitué de composés isomères dont les chaînes latérales sont plus ou moins ramifiées (Figure 17). Les APEO sont ensuite synthétisés par une réaction avec l'oxyde d'éthylène et l'hydroxyde de potassium/éthanol comme catalyseur. Enfin, il en résulte un mélange d'homologues oligomères avec des longueurs variables de la chaîne polyéthoxy, principalement entre 1 et 40 groupement éthoxylés. L'APEO le plus utilisé est le NPEO, qui représente 80 à 85 % de tous les APEO produits, le reste étant constitué par les OPEO et DPEO.

Les APEO sont largement utilisés dans les formulations de produits détergents et comme auxiliaires de synthèse. Ils ont un large éventail d'applications, notamment comme agents dispersants dans la production de papier et de pâte à papier, comme agents émulsifiants dans les peintures au latex et les formulations de pesticides, comme détergents industriels (surfaces métalliques, traitement des textiles et industrie alimentaire), comme détergents à froid pour les voitures et comme détergents ménagers. En Europe occidentale, l'utilisation des APEO a diminué suite à l'identification en tant que perturbateur endocrinien et l'inscription dans la convention OSPAR et dans la liste des « substances extrêmement préoccupantes » (substance of very high concern (SVHC)) de la réglementation REACH, de leurs principaux produits de dégradation (les AP) (INERIS 2016). En revanche, la consommation d'APEO devrait augmenter sur le marché asiatique. Les statistiques relatives au NP en Inde montrent un marché en pleine croissance avec une consommation annuelle de NPEO estimée entre 40 et 44 kilotonnes (Acir & Guenther 2018).

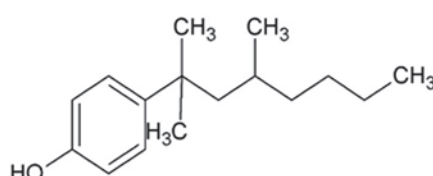
Le cocamide MEA est un mélange d'éthanolamines d'acides gras dérivés de l'huile de noix de coco (Bergfeld et al. 1999). La longueur de la chaîne alkyle varie de 8 à 18 atomes de carbone mais, comme l'huile de coco contient environ 50 % d'acide laurique (voir Coprah dans Tableau 4), le lauramide MEA est majoritaire. Le cocamide MEA est utilisé pour ses propriétés de stabilisant de mousse, émulsionnant, détergent et épaississant. Il est donc présent dans la

formulation des nombreux produits: produits de lavage et de nettoyage, cosmétiques et produits d'hygiène personnelle, produits d'assainissement de l'air, cires et vernis, peinture et revêtements, produits pharmaceutiques, parfums et désodorisants (ECHA 2019).

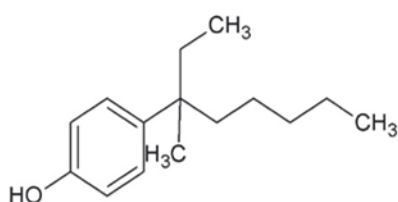
Exemples d'isomères connus de NP



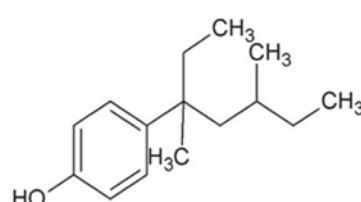
4-NP₉ (4-[1,1-dimethylheptyl]-phenol)



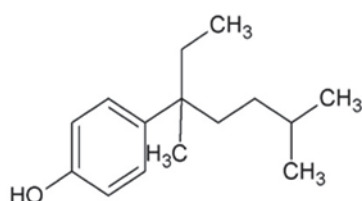
4-NP₃₆ (4-[1,1,3-trimethylhexyl]-phenol)



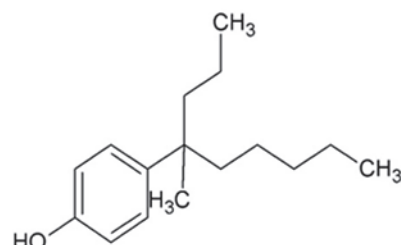
4-NP₆₅ (4-[1-ethyl-1-methylhexyl]-phenol)



4-NP₁₁₁ (4-[1-ethyl-1,3-dimethylpentyl]-phenol)

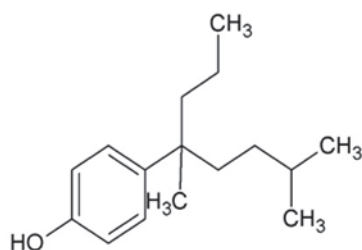


4-NP₁₁₂ (4-[1-ethyl-1,4-dimethylpentyl]-phenol)

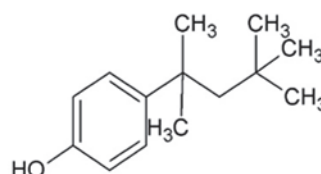


4-NP₁₅₂ (4-[1-methyl-1-n-propylpentyl]-phenol)

Isomère d'OP le plus courant



4-NP₁₉₄ (4-[1,3-dimethyl-1-n-propylbutyl]-phenol)



4-tert.-OP (4-[1,1,3,3-tetramethylbutyl]-phenol)

Figure 17: Exemples d'isomères de NP et OP (adaptée de Acir & Guenther 2018)

Tableau 4: Composition des huiles et graisses classiquement utilisées pour des applications industrielles (ADEME 2001)

Acides gras		Palmiste	Coprah	Palme	Olive	Arachide	Colza classique	Tournesol classique	Soja	Coton	Suif de bœuf
caprylique	C8:0	2-5%	6-10%	-	-	-	-	-	-	-	-
caprique	C10:0	3-5%	6-10%	-	-	-	-	-	-	-	-
laurique	C12:0	44-51%	39-54%	traces	-	-	-	-	-	-	0-1%
myristique	C14:0	15-17%	15-23%	1-2%	-	-	0-1%	-	traces	0,5-1,3%	2-6%
palmitique	C16:0	7-10%	6-11%	43-46%	8-14%	8-13%	1-5%	5-7%	8-13%	17-31%	20-33%
stéarique	C18:0	2-3%	1-4%	4-6%	3-6%	3-4%	0,5-2%	4-6%	2-5%	1-3%	14-29%
oléique	C18:1	11-18%	4-11%	37-41%	61-80%	43-66%	50-65%	15-25%	17-26%	13-21%	35-50%
linoléique	C18:2	1-4%	1-2%	9-12%	3-14%	14-28%	15-30%	62-70%	50-62%	34-60%	2-5%
linolenique	C18:3	traces	traces	traces	< 1%	< 0,5 %	6-13%	< 0,2%	4-10%	<1%	0.015
eicosénoïque	C20:1	-	-	-	< 0,4 %	1-2%	1-3%	< 0,5%	< 0,4%	-	-
béhénique	C22:0	-	-	-	< 0,9%	2-4%	0.50%	< 1%	< 0,5%	-	-
érucique	C22:1	-	-	-	-	-	0-5%	-	-	-	-

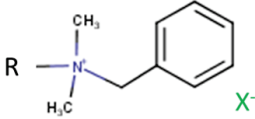
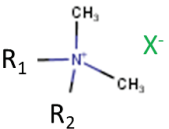
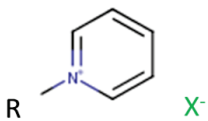
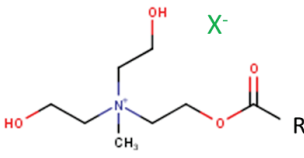
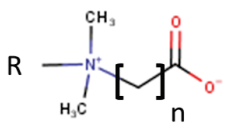
Le surfynol 104® est le nom commercial du 2,4,7,9-Tetramethyl-5-decyne-4,7-diol (TMDD) (Guedez et al. 2010). Lui et ses dérivés éthoxylés sont des tensioactifs diols acétyléniques appartenant au groupe des tensioactifs appelés Gemini. En raison de ses propriétés anti-mousse et de mouillage, le TMDD est largement utilisé dans les applications industrielles pour diminuer la tension de surface des formulations à base d'eau, notamment les revêtements, les adhésifs, les peintures et les encres d'impression, et pour faciliter le mouillage complet des surfaces. Le TMDD est également utilisé dans les formulations de pesticides (environ 5 %) et comme intermédiaire dans la synthèse des tensioactifs à base de polyéthylène glycol éther, Surfynol 420® et 440®. Ces derniers ont une résistance à l'eau plus élevée et sont utilisés comme agents mouillants anti-mousse. Ils servent par exemple d'entraîneur d'air dans les bétons.

1.3- Tensioactifs cationiques et amphotériques

La grande majorité des tensioactifs cationiques et amphotériques sont des ammoniums quaternaires (Tableau 5). Les triéthanolamine (TEA) esterquat (TEAQ) sont les tensioactifs cationiques les plus produits et/ou importés en Europe avec plus de 100 000 tonnes par an

(ECHA 2019), suivis des chlorures de benzalkonium (BAC) et de dialkyldiméthylammonium (DDAC) avec plus de 1000 t/an, et le cetyl bétaine et le laurylpyridinium entre 10 et 100 t/an.

Tableau 5: Structure générale et homologues les plus courants des BAC, DDAC, alkylpyridinium, TEA esterquat et alkyl bétaine

Nom	Formule générale	Abréviation ou nom usuel	Homologues les plus courants	N°CAS associés
Alkylbenzyl diméthyl ammonium ou benzalkonium		BAC (X ⁻ = Cl ⁻)	R = C ₁₂ H ₂₅ BAC-C ₁₂ R = C ₁₄ H ₂₉ BAC-C ₁₄ R = C ₁₆ H ₃₃ BAC-C ₁₆ R = C ₁₈ H ₃₇ BAC-C ₁₈	139-07-1 139-08-2 122-18-9 122-19-0
Dialkyldiméthyl ammonium		DDAC (X ⁻ = Cl ⁻)	R ₁ , R ₂ = C ₁₀ H ₂₁ DDAC-C ₁₀	7173-51-5
Alkylpyridinium		Alkylpyridinium	R = C ₁₂ H ₂₅ Laurylpyridinium R = C ₁₆ H ₃₃ Cetylpyridinium	X ⁻ = Cl ⁻ 104-74-5 123-03-5
Triéthanolamine Esterquat	 Mono-, di- et tri-ester	TEAQ	R = C ₁₆ H ₃₃ TEAQ-C ₁₆ R = C ₁₈ H ₃₇ TEAQ-C ₁₈	X ⁻ = CH ₃ SO ₄ ⁻ 157905-74-3
Alkyl bétaine		Alkyl bétaine	R = C ₁₆ H ₃₃ Cetyl bétaine n=1	693-33-4

Le BAC est un mélange d'homologues du chlorure de n-alkylbenzyl diméthyl ammonium dont la longueur de la chaîne n-alkyle varie, où " n " représente un nombre pair d'atomes de carbone de 8 à 18. Les homologues les plus couramment rencontrés sont en C₁₂, C₁₄ et C₁₆ (Martinez-Carballo et al. 2007b). Les DDAC (notés aussi DADMAC dans plusieurs ouvrages) sont principalement utilisés commercialement en mélange avec une chaîne alkyle en C₁₀ ou en C₁₈ dans de nombreux produits ménagers. Les DDAC C₁₄-18, également appelés chlorure de ditallowdiméthyl ammonium (DTDMAC), ont fait l'objet d'une attention particulière au cours des dernières décennies en raison de leur utilisation intensive comme assouplissants textiles, ce qui a suscité des inquiétudes quant à leurs niveaux élevés dans les boues d'épuration au début

des années 1990 (Ruan et al. 2014). Les BAC et DDAC sont majoritairement produits à partir d'acides gras ou, dans une moindre mesure, d'alcools gras, qui sont transformés en amines grasses. Ces amines sont finalement quaternisées avec du chlorure de benzyle, du chlorure de méthyle ou du sulfate de diméthyle. Le contre-ion des BAC, DDAC et laurylpyridinium le plus courant est l'ion chlorure, mais ils existent également sous forme de bromures.

Les BAC, DDAC et alkylpyridinium sont des substances actives biocides, et notamment bactéricides. La définition de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) d'un produit biocide est la suivante : « substance ou préparation destinée à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre, par une action chimique ou biologique. ». Il existe un certain consensus sur le fait que les ammonium quaternaires perturbent et finissent par détruire la membrane cytoplasmique des bactéries (Figure 18). Cette perturbation provoque des fuites qui finissent par détruire l'organisme. Cependant, on ne comprend pas entièrement comment ce processus se développe à l'échelle moléculaire.

Actuellement, les chercheurs soutiennent principalement deux mécanismes (Loontjens 2013). Les bactéries ont généralement une couche externe de peptidoglycane (paroi cellulaire) et une membrane interne de phospholipides qui sont des molécules amphiphiles et qui contiennent des groupements glycérol phosphates qui sont neutralisés par des ions calcium ou magnésium. Dans le premier mécanisme, les ammonium quaternaires traversent la couche externe puis perturbent la couche de phospholipide en raison de leur caractère amphiphile. Dans le deuxième mécanisme, ils traversent également la couche externe mais la déstabilisation provient du caractère cationique des ammonium quaternaires. Si des molécules chargées positivement pénètrent dans la membrane cellulaire, ils doivent s'échanger avec les ions Ca^{2+} ou Mg^{2+} afin de respecter le principe de neutralité électrique. De plus, non seulement les ions Ca^{2+} sont les contre-ions des phospholipides mais ils sont également responsables de la stabilité de la couche de phospholipides en raison des interactions ioniques.

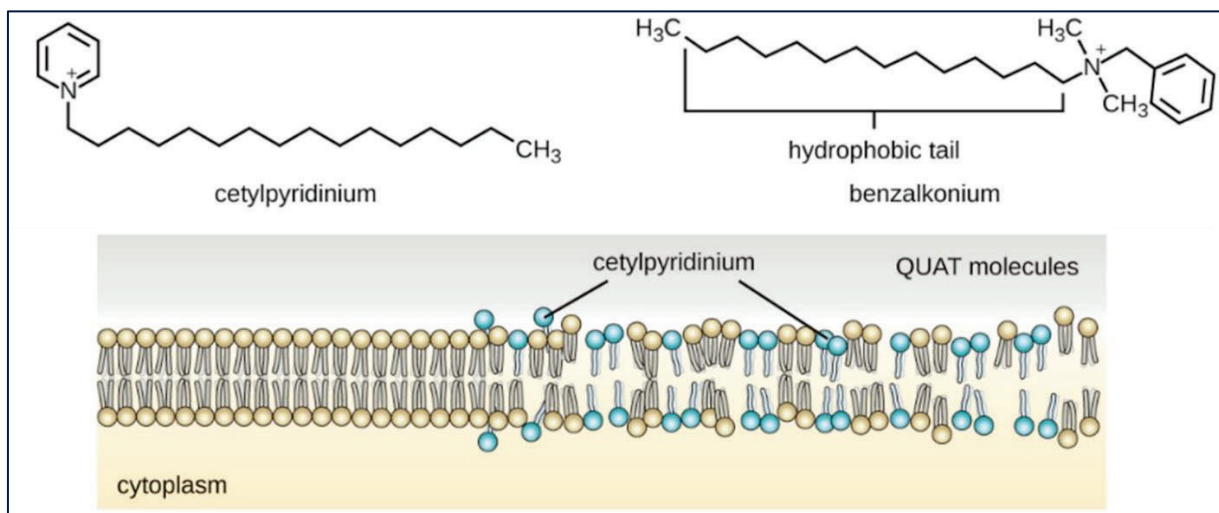


Figure 18: Représentation schématique de la perturbation causée par les ammonium quaternaires sur la membrane cytoplasmique (Source : <https://courses.lumenlearning.com/microbiology/>)

Le premier produit contenant des BAC a été enregistré auprès de l'Environmental Protection Agency (EPA) aux États-Unis, en 1947 (Pereira & Tagkopoulos 2019). Depuis, les BAC et DDAC sont utilisés dans une grande variété de produits. Les applications vont de l'usage domestique à l'usage industriel, agricole et clinique. Ils sont utilisés comme assouplissants dans les lessives. Dans les produits de soins personnels, on les retrouve en particulier dans les shampoings et après-shampoings en raison de la charge négative des cuticules auxquelles ils se fixent (Mulder et al. 2018). Ils entrent également dans la composition des produits anti-mousse pour l'entretien des toitures. Dans l'industrie, ils sont employés comme agents de décollement dans la production de papier, comme promoteurs d'adhérence dans le béton. En agriculture, ils sont présents dans les formulations de pesticides et ils sont les ingrédients courants des désinfectants et des détergents utilisés dans l'élevage d'animaux tels que les bovins laitiers, les porcs ou les industries de la volaille. Ils sont également très utilisés en tant que bactéricide en milieu hospitalier. Les lauryl et cetylpyridinium sont quant à eux principalement utilisés en tant qu'antiseptique, aussi bien dans la médecine humaine que vétérinaire.

Les structures de base des TEA esterquats (TEAQ) contiennent une fonction amine et deux ou trois fonctions hydroxyle. Les fonctions hydroxyles sont estérifiées avec des acides gras à longue chaîne, principalement à base de suif (Tableau 4) (Human and Environmental Risk Assessments (HERA) 2008). Par conséquent, la longueur de la chaîne aliphatique varie de C₁₆ à C₁₈, la chaîne C₁₈ pouvant comprendre une double liaison. Le principal produit de la réaction est le composé dialkylester, à côté duquel de petites quantités de monoalkylester et trialkylester peuvent être formées. La fonction amine est ensuite quaternisée par le chlorure de méthyle ou le sulfate de diméthyle. Les TEAQ font partie d'une classe d'agents de surface cationiques largement utilisée, appelée esterquats. Ceux-ci ont été introduits au début des années 1980 lorsque des inquiétudes ont été soulevées quant au profil environnemental des chlorures de diméthylldioctadécylammonium (DHTDMAC), utilisés comme assouplissants. Les esterquats sont similaires au DHTDMAC, sauf que des liaisons ester ont été introduites dans le groupe de tête des molécules, les rendant plus sujettes à la dégradation par hydrolyse et facilitant la biodégradation. La plupart, sinon la totalité, des assouplissants en Europe sont maintenant constitués des trois groupes d'esterquats, TEAQ, DEEDMAC (chlorure de diéthoxyester diméthylammonium), et HEQ (chlorure de (Z)-2-hydroxy-3-[(1-oxo-9-octadécényl)oxy]propyltriméthylammonium) (HERA 2008).

Les amidoamines comprennent 24 homologues (Cosmetic Ingredient Review 2012). Le groupement amine tertiaire implique qu'ils sont sous forme cationique sur une large gamme de pH (pH > 5 ou 6). Vingt-trois sur les 24 sont exclusivement employés dans les produits cosmétiques en tant qu'agents antistatiques. Parmi eux, le stéaramidopropyl diméthylamine (DMA) est le plus souvent utilisé, notamment dans les shampoings. Ils sont également utilisés comme intermédiaires de synthèse de la cocamidopropyl bétaine (CAPB), qui est produite/importée à plus de 10000 tonnes par an en Europe pour une application à plus de 50% dans les produits cosmétiques.

Les composés tensioactifs ayant des propriétés à la fois acides et basiques sont connus sous le nom de tensioactifs amphotères ou zwitterioniques. En volume, les familles les plus importantes de tensioactifs amphotères sont les alkylamido-bétaïnes et les alkyl-bétaïnes (Madsen et al. 2001). Toutes les bétaines sont caractérisées par un azote quaternisé. Dans les alkyl-bétaïnes,

l'un des groupes méthyle de la structure "bétaine"(N,N,N-triméthylglycine) est remplacé par une chaîne alkyle linéaire (par exemple, cetylbétaïne). Dans les alkylamido-bétaïnes, un groupe amide est inséré comme lien entre les alkyles hydrophobes et la partie hydrophile. Les alkylamido-bétaïnes les plus couramment utilisés sont les alkylamidopropylbétaïnes (par exemple, cocoamidopropyl bétaine), tandis que les alkylamidoéthyles sont produits en plus petites quantités. Les bétaïnes sont principalement utilisées dans les produits de soins personnels tels que les shampoings, les savons liquides, et des lotions nettoyantes. Parmi les autres applications figurent les produits de nettoyage universels, les produits de nettoyage pour les mains, les détergents pour lave-vaisselle et les détergents textiles spéciaux.

Points clés de la partie 1

- Les tensioactifs sont des mélanges complexes d'homologues et isomères dont la composition dépend des matières premières et des procédés de synthèse utilisés.
- Sur les douze familles de tensioactifs étudiées, trois sont produites/importées en Europe à des tonnages supérieurs à 100 000 par an : les LAS, les Sodium Lauryl Ether Sulfate (SLES) et les TEA esterquats (TEAQ). Toutes, exceptés les alkylpyridiniums, sont produites/importées à plus de 1000 tonnes par an.
- Les domaines d'application des tensioactifs sont extrêmement variés, allant du domestique à l'industriel, en passant par l'agricole et l'hospitalier, ce qui suggère un grand nombre de sources de transfert vers l'environnement.

2- Transfert, devenir dans l'environnement et impact

Les principales sources de contamination du milieu aquatique par les tensioactifs sont les effluents de stations d'épuration urbaines (STEU). Mais de par leurs applications diverses, d'autres sources ne doivent pas être négligées (Figure 19). Leur présence dans les produits phytosanitaires, les peintures, les produits d'entretien de toitures par exemple, suggère également une contamination via les eaux de ruissellement, à la fois urbaines et rurales.

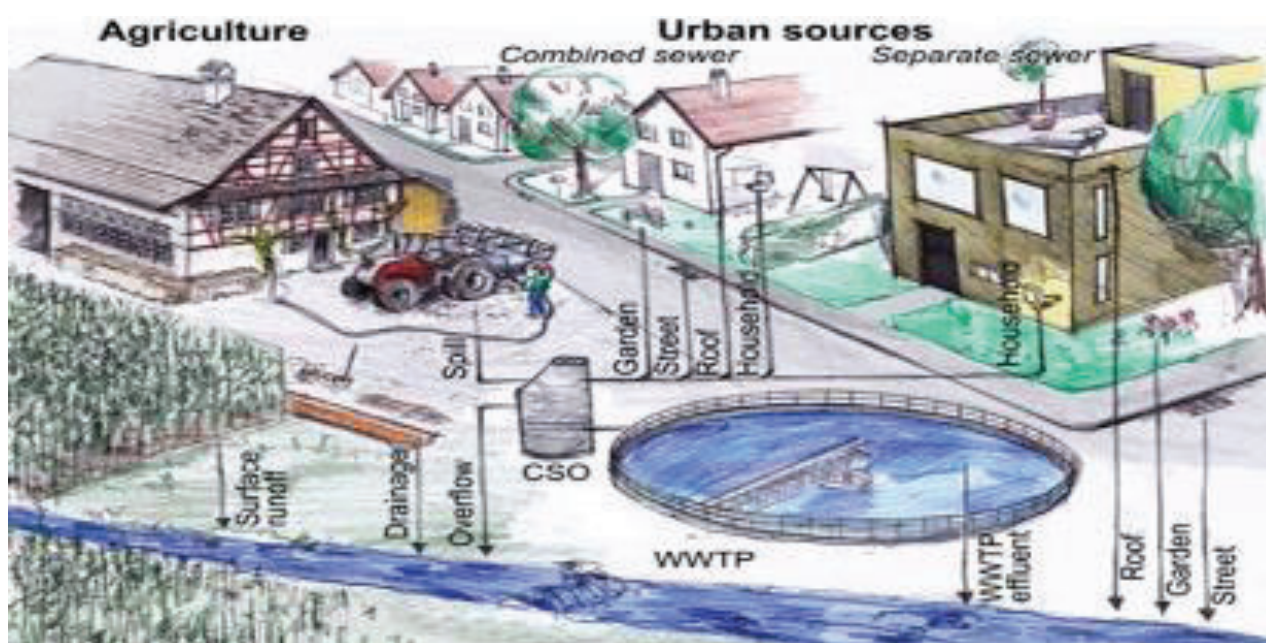


Figure 19: Principales sources et voies de rejet des tensioactifs (Wittmer et al. 2014)

Une fois dans les réseaux et les STEU, les micropolluants peuvent être éliminés de la fraction dissoute des eaux suivant différents mécanismes : la volatilisation, l'adsorption et les dégradations biotiques et abiotiques (hydrolyse, photolyse). Les tensioactifs sont de manière générale peu volatils donc les mécanismes principaux sont la dégradation et l'adsorption. La réglementation européenne impose depuis 2006 une biodégradabilité ultime des tensioactifs (transformation en eau et gaz carbonique) de 60% avant 28 jours, ce qui implique que potentiellement 40% n'est pas biodégradable. De plus, leur caractère amphiphile, c'est-à-dire à la fois polaire et apolaire, implique qu'ils peuvent avoir une affinité aussi bien pour la fraction dissoute que pour la fraction particulaire des matrices environnementales. Bergé et al. 2018 ont étudié la répartition dissous/particulaire de douze familles de tensioactifs, anioniques,

cationiques et non-ioniques dans des eaux usées urbaines (Figure 20) : toutes, excepté le comperlan 100, sont retrouvées à la fois dans la phase dissoute et particulaire. En particulier, les tensioactifs cationiques présentent une forte affinité pour la fraction particulaire, avec un pourcentage allant jusqu'à 80%.

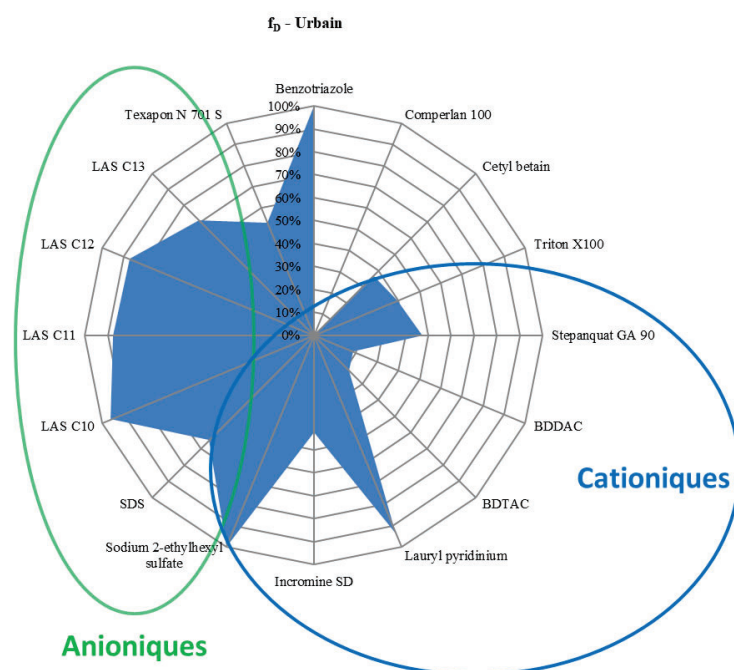


Figure 20: Pourcentage dans la fraction dissoute de tensioactifs dans des eaux usées urbaines (Berge et al. 2018)

Les molécules associées aux particules, dites « non-extractibles », sont a priori moins biodisponibles aux organismes et donc potentiellement moins dangereuses. L'hypothèse sous-jacente est que les micropolluants associés aux matières organiques forment des complexes trop volumineux pour pouvoir traverser la membrane biologique ; ainsi, seuls les contaminants organiques dissous libres resteraient biodisponibles pour les organismes. Cependant, si on considère que la matière organique peut être facilement absorbée par des organismes par ingestion, sa capacité à fixer les polluants devient alors un vecteur de biodisponibilité, et non une protection (Gourlay-Francé et al. 2010). C'est le cas pour certains organismes benthiques ou des bivalves dont l'activité de broutage ou de filtration est très forte. De plus, ces molécules séquestrées dans les particules peuvent être libérées par des phénomènes physiques et/ou chimiques (Schaeffer et al. 2018), ce qui implique qu'il faut également les prendre en compte dans l'évaluation des risques.

Que ce soit dans la phase dissoute ou particulaire, le nombre de données disponibles concernant l'occurrence des tensioactifs dans l'environnement est très hétérogène selon la famille de tensioactifs considérée. Parmi les tensioactifs de cette thèse, les LAS et les APEO ont été les plus étudiés, suivis par les AES et AS et les tensioactifs cationiques BAC et DDAC. Par contre, pour les six familles restantes, surfynol, TEA esterquat, alkylpyridinium, alkyl bétaine, cocamide MEA et amidoamines, peu voire aucune donnée ne sont publiées.

2.1- LAS

Les LAS sont les tensioactifs les plus étudiés dans l'environnement (Tableau 6).

Tableau 6: Aperçu des concentrations retrouvées en LAS (somme des homologues C10 à C13) dans les matrices environnementales entre 2000 et 2020

Fraction	Matrice	Concentrations moyennes ou min - max en µg/L pour le dissous et en µg/kg pour le particulaire	Références
Dissoute	Eau de surface	5,3	Traverso-Soto et al. 2015
		0,82	Lara-Martin et al. 2011
		0,67 - 26	Gonzalez et al. 2004
		1,9 - 361	Sakai et al. 2017
		0,7	Li et al. 2020
	Eau usée brute	3200	Freeling et al. 2019
		2167	Clara et al. 2007
		104 - 1920	Gonzalez et al. 2004
		203	Lara-Martin et al. 2011
		4600	Bergé et al. 2018
Particulaire	Eau usée traitée	2290	Li et al. 2020
		14,4	Freeling et al. 2019
		13,3	Clara et al. 2007
		0,21	Lara-Martin et al. 2011
		11 - 872	Gonzalez et al. 2004
	Matière en suspension	15,3	McDonough et al. 2016
		30 - 78	Bergé et al. 2018
		7,6	Li et al. 2020
	Sédiment	2067	Clara et al. 2007
		23237	Lara-Martin et al. 2011
		833 - 3818	Traverso-Soto et al. 2015
		356	Lara-Martin et al. 2011
	Boue	164 - 86940	Gonzalez et al. 2004
		745	Li et al. 2018
		171000	Gonzalez et al. 2012

Les concentrations en LAS dans les eaux usées brutes sont en accord avec leur utilisation, c'est-à-dire très élevées, de l'ordre du mg/L (Lara-Martin et al. 2011). Malgré un fort abattement en station d'épuration (entre 85 et 99,9 %), les concentrations dans les eaux usées traitées restent relativement élevées, de la dizaine à la centaine de µg/L (Traverso-Soto et al. 2015). De plus, les concentrations très élevées dans les boues (Gonzalez et al. 2012), de l'ordre de la centaine de mg/kg montrent qu'un fort pourcentage de LAS n'est pas dégradé mais adsorbé sur les particules en suspension. Enfin, les concentrations dans les eaux de surface sont de l'ordre du µg/L.

La majorité des études concernant les LAS rapportent la somme des concentrations des homologues C10 à C13, seulement les plus récentes donnent les concentrations individuelles des homologues (voir section 1.1 de ce chapitre). Dans la plupart des LAS commerciaux, les homologues les plus abondants sont les LAS C11 et C12, à des pourcentages d'environ 30% chacun. Cependant, la distribution est différente dans les matrices environnementales.

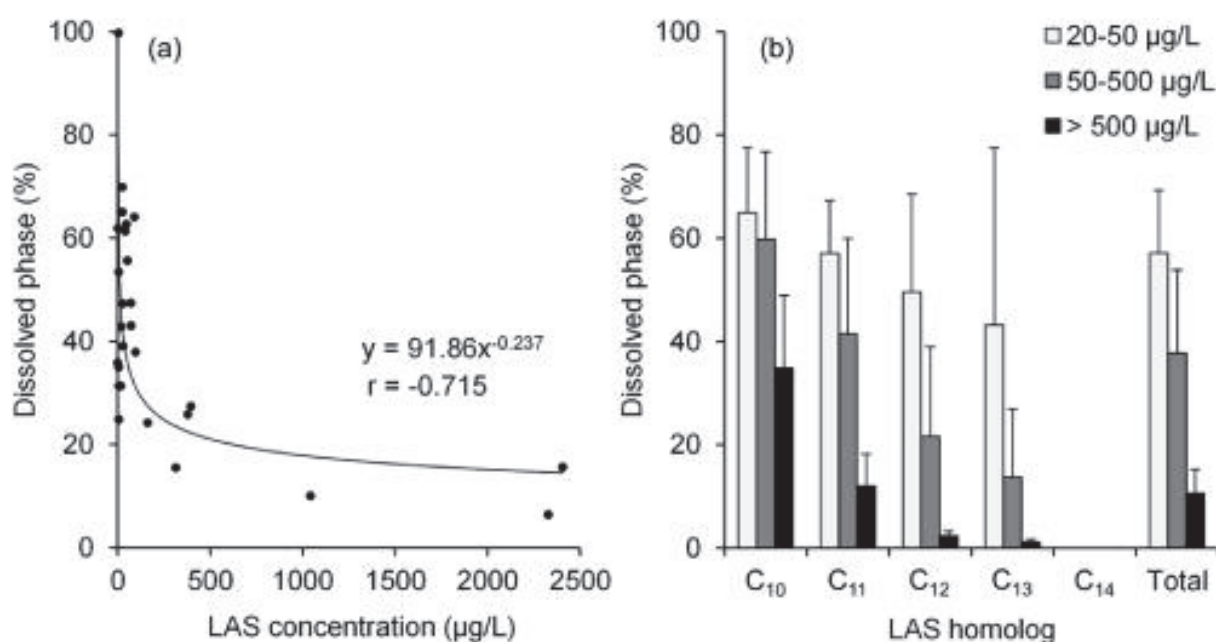


Figure 21: (a) Corrélation négative entre la concentration des LAS et le pourcentage en phase dissoute dans les eaux de surface ($n = 28$) (b) Concentration de chaque homologue (LAS C10 à C14) (Sakai et al. 2017)

Dans la phase dissoute des eaux de surface, c'est le plus souvent l'homologue C10, le plus polaire, qui est dominant tandis que dans la phase particulaire (Figure 21), c'est l'homologue C13, le plus hydrophobe (Bergé et al. 2018). De plus, d'après l'étude de Sakai et al. 2017, la

partition dissous/particulaire des LAS varie en fonction de la concentration en LAS dans le milieu : plus elle est élevée, plus le pourcentage en phase dissoute diminue, jusqu'à moins de 20% pour des concentrations supérieures à 100 µg/L (Figure 21).

Les LAS ont été introduits en 1964 comme substituts facilement biodégradables des alkylbenzène-sulfonates ramifiés (ABS) alors couramment utilisés, suite à l'observation de moussage excessif dans les stations d'épuration des eaux usées et les eaux réceptrices. La dégradation biotique des LAS en condition aérobie a été démontrée par un grand nombre d'études (Mungray & Kumar 2009). La biodégradation des LAS commence par une ω -oxydation suivie par le clivage successif de la chaîne alkyle (β -oxydation) (Figure 22). La réaction qui se produit lors des oxydations ω - et β - génère des sulfophénylcarboxylates (SPC). Le clivage du cycle aromatique des SPC suit alors pour atteindre la minéralisation des LAS.

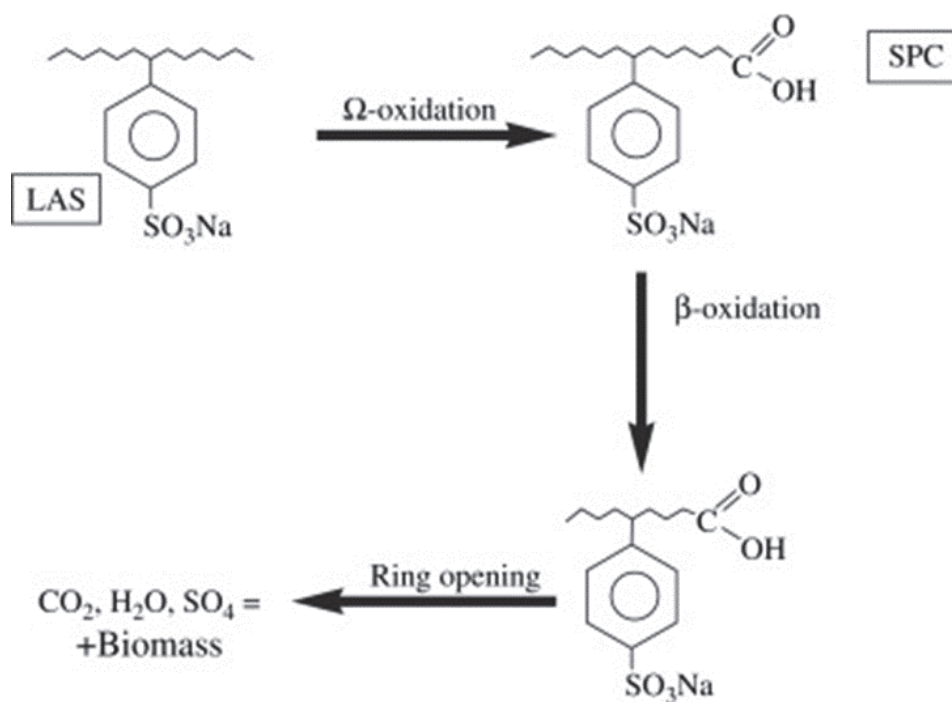


Figure 22: Mécanisme de biodégradation des LAS en milieu aérobie (Mungray & Kumar 2009)

Freeling et al. 2019 et Lara-Martin et al. 2007 ont recherché les SPC et des sous-produits des LAS, les DATS, respectivement dans les eaux usées et les sédiments. Il en ressort que la somme des concentrations retrouvées en SPC et sous-produits des LAS dans les eaux usées est du même ordre de grandeur que celle des LAS eux-mêmes. En ce qui concerne les sédiments, les SPC et DATS ont également été détectés. En dépit de leur faible pourcentage (de <1 à 8 %) dans les

LAS commerciaux, les DATS ont été quantifiés à des concentrations variant de 22 à 27 $\mu\text{g/kg}$. Leur voie de dégradation semble être la même que pour les LAS mais des temps de demi-vie plus longs ont été reportés (Lara-Martin et al. 2007).

Bien que relativement biodégradable, une fraction des LAS se retrouve dans les sédiments fluviaux et côtiers en raison de la capacité d'adsorption élevée de ces tensioactifs et de leur affinité pour le carbone organique dans le sédiment. Dans certains cas, des conditions anaérobies peuvent être présentes sous une couche de seulement quelques millimètres d'épaisseur. Un débat subsiste sur la question de savoir si les LAS peuvent être dégradés ou non dans ce type de milieu anaérobie (Corada-Fernandez et al. 2018). En effet, des concentrations de l'ordre de plusieurs g/kg de LAS ont été trouvées dans les boues d'épuration après digestion anaérobie.

Des effets toxiques de LAS ont été reportés sur différents organismes (Ivankovic & Hrenovic 2010) mais à des concentrations de l'ordre de la dizaine de mg/L , c'est-à-dire très supérieures à celles retrouvées dans les eaux de surface. Cependant, d'après Freeling et al. 2019, la PNEC (Predicted No-Effect Concentration) des LAS C10 à C13 est évaluée à 25 $\mu\text{g/L}$. Les concentrations dans les eaux de surface sont environ 20 fois inférieures, mais ponctuellement, la PNEC peut être dépassée, près d'un rejet de station d'épuration ou lors d'évènements pluvieux intenses. De plus, ils peuvent avoir un effet indirect en rendant des polluants toxiques plus solubles en milieu aqueux et donc plus biodisponibles.

2.2- AES et AS

Les études de détermination des AES et AS dans l'environnement sont beaucoup moins nombreuses que pour les LAS (Tableau 7). Elles sont difficiles à comparer entre elles car les homologues recherchés ne sont pas les mêmes. Néanmoins, on peut en tirer quelques tendances. De manière générale, les concentrations en AS, qui correspondent aux AES sans groupement ethoxy (EO_0), sont inférieures aux concentrations des AES. Malgré leur utilisation à de forts tonnages, les concentrations dans les eaux usées brutes sont inférieures aux LAS, de l'ordre de la centaine de $\mu\text{g/L}$. Comme les LAS, les AES et AS sont bien éliminés par les stations d'épuration, avec des abattements reportés supérieurs à 90% (Freeling et al. 2019). Il en résulte

des concentrations dans les eaux traitées entre la centaine de ng/L et le µg/L. Les concentrations reportées dans les boues sont très élevées, de l'ordre du mg/kg pour les AES et de 100 µg/kg pour les AS (Abril et al. 2018). Enfin, dans les eaux de surface, les concentrations se situent entre la dizaine et la centaine de ng/L.

Tableau 7: Aperçu des concentrations retrouvées en AES et AS dans les matrices environnementales entre 2000 et 2020

Fraction	Matrice	Homologues recherchés	Concentrations moyennes ou min - max en µg/L pour le dissous et en µg/kg pour le particulaire	Références
Dissoute	Eau de surface	C ₁₂ EO ₁₋₄ S	0,3 - 19	Huber et al. 2016
		C ₁₂ AS ^a	0,13 - 0,41	Huber et al. 2016
		C ₁₂₋₁₅ EO ₀₋₈ S	0,01 - 0,2	Sanderson et al. 2006a
	Eau usée brute	C ₁₂ AS ^a	0,85 - 7,9	Huber et al. 2016
		C ₁₂ EO ₁₋₄ S	2,7 - 970	Huber et al. 2016
		C ₁₂ AS ^a	17,4	Santos et al. 2015
		C ₁₂₋₁₅ EO ₀₋₈ S	162 - 200	Sanderson et al. 2006a
		C ₁₂₋₁₄ EO ₀₋₉ S	400 - 1000	Freeling et al. 2019
	Eau usée traitée	C ₁₂₋₁₆ AS	5,0	McDonough et al. 2016
		C ₁₂₋₁₆ EO ₁₋₄ S	1,95	McDonough et al. 2016
		C ₁₂ EO ₁₋₄ S	0,8 - 450	Huber et al. 2016
		C ₁₂ AS ^a	0,79 - 5,6	Huber et al. 2016
		C ₁₂₋₁₅ EO ₀₋₈ S	0,24 - 2,8	Sanderson et al. 2006a
		C ₁₂₋₁₄ EO ₀₋₉ S	0,57	Freeling et al. 2019
Particulaire	Sédiment	C ₁₂₋₁₅ EO ₀₋₈ S	34 - 117	Sanderson et al. 2006b
	Boue	C ₁₂ AS ^a	210 - 3100	Huber et al. 2016
		C ₁₂ EO ₁₋₄ S	510 - 180000	Huber et al. 2016
		C ₁₂₋₁₈ AS	286 - 815	Abril et al. 2018

^a Selon les articles, C₁₂AS est noté aussi C₁₂EO₀S ou SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) ou SLS (Sodium Lauryl Sulfate)

Il existe trois voies de dégradation des AES qui semblent toutes se produire simultanément: i) ω-/β-oxydation de la chaîne alkyle, ii) clivage du substituant sulfate laissant un alcool polyethoxylé, iii) clivage des liaisons éthers produisant des sulfates d'éther de glycol (HERA 2004). La biodégradabilité finale des alcools polyethoxylés est bien établie et il a également été démontré que les sulfates d'éther de glycol sont entièrement dégradables formant du sulfate inorganique et du dioxyde de carbone.

Les AES sont des mélanges complexes de différents homologues, mais les majoritaires sont les homologues en C₁₂ et C₁₄ (voir section 1.2 de ce chapitre). Deux études (McDonough et al. 2016, Freeling et al. 2019) reportent les concentrations individuelles en homologues dans des eaux usées traitées et montrent les mêmes tendances (Figure 23).

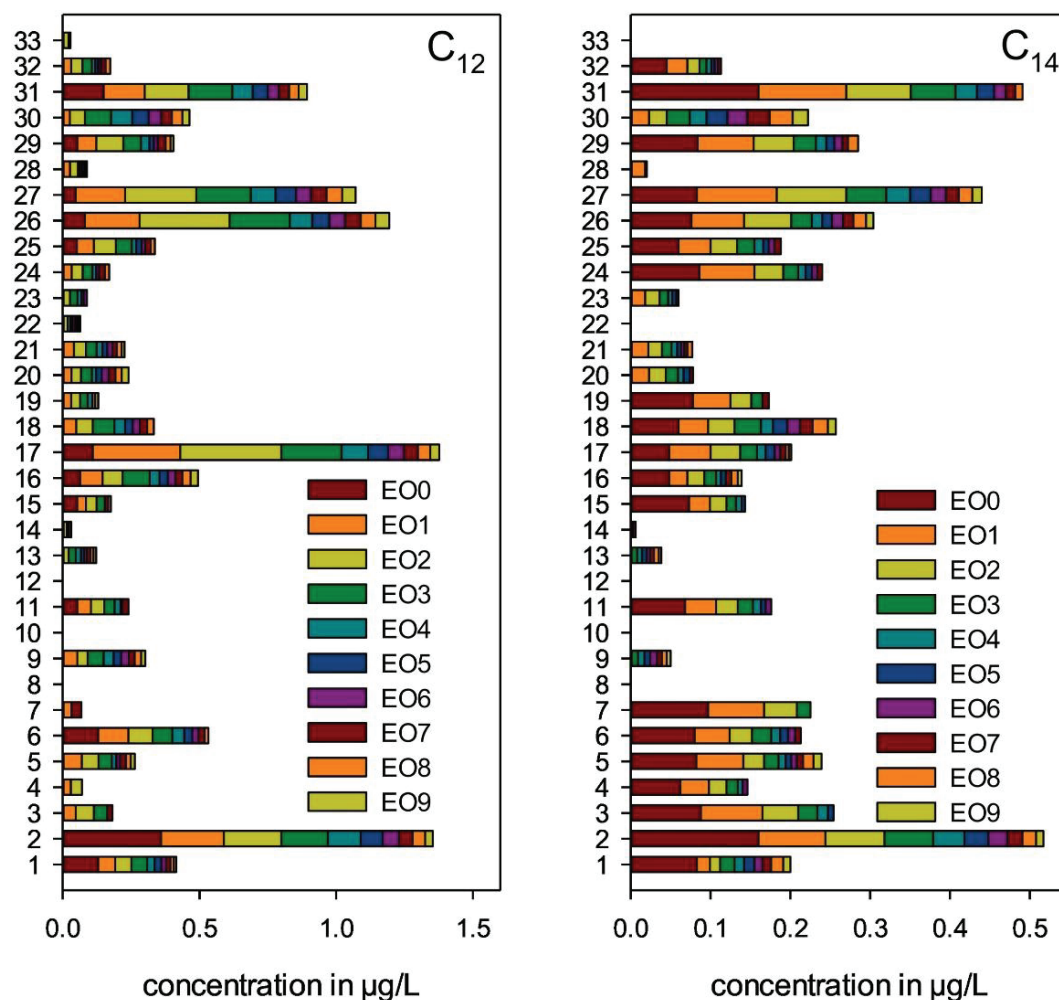


Figure 23: Concentrations en AES C₁₂ et C₁₄ avec un nombre de groupements ethoxy allant de 0 à 9 dans 33 eaux usées traitées (Freeling et al. 2019)

Les concentrations en homologues C₁₄ sont inférieures aux homologues C₁₂ et les congénères majoritaires sont ceux avec un nombre de groupements éthoxy compris entre 0 et 3. Diverses études ont montré que l'écotoxicité augmente avec la longueur de la chaîne alkyle et diminue avec le degré d'éthoxylation (Sanderson et al. 2006a). Mais, pour les mélanges de congénères ayant une longueur de chaîne alkyle supérieure et un faible degré d'éthoxylation, une solubilité limitée dans l'eau semble limiter la toxicité.

2.3- APEO

Au cours des différentes étapes du traitement des eaux usées, les APEO subissent un processus complexe de biodégradation dans lequel plusieurs micro-organismes métabolisent les APEO par leur chaîne éthoxy et forment différents produits de dégradation, notamment les 4-alkylphénols (AP), l'acide (4-alkylphénoxy) acétique (AP₁EC), l'acide (4-alkylphénoxy) éthoxy acétique (AP₂EC), le monoéthoxylate de 4-alkylphénol (AP₁EO) et le diéthoxylate de 4-alkylphénol (AP₂EO) (Figure 24).

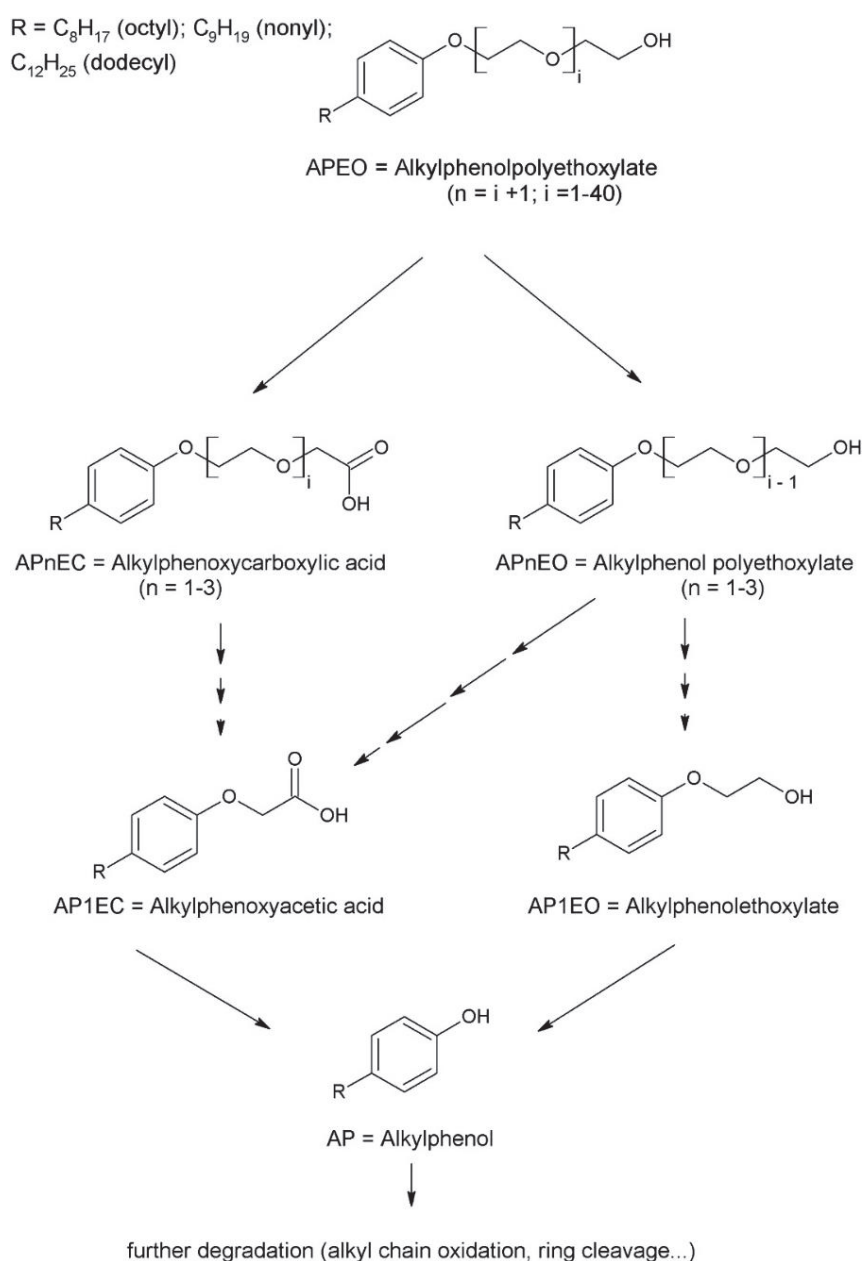


Figure 24: Schéma des mécanismes de dégradation des APEO

Il est estimé que 65% des alkylphénols et dérivés entrant dans les stations d'épurations sont rejetés dans l'environnement (INERIS 2016). En raison de la biodégradation relativement rapide de la chaîne éthoxy des APEO (contenant généralement 10 à 20 EO), les composés parents peuvent être éliminés lors du traitement des eaux usées, alors que la concentration en produits de dégradation à chaîne courte (0 à 4 EO) augmentent. Ceux-ci peuvent persister et sont couramment détectés dans les effluents des stations d'épuration (Barber et al. 2015). De plus, la distribution dans l'environnement des APEO dépend du degré d'éthoxylation (Tableau 8).

Tableau 8: Résultat de modélisation (Mackay Level 1) de la distribution dans l'environnement des OPEO en fonction des grades d'éthoxylation (INERIS 2016)

Grade d'éthoxylation	Distribution dans les compartiments		
	Air (en %)	Eau (en %)	Sols (%)
2	45,38	2,09	52,53
4	2,63	10,66	86,71
6	0,05	27,06	72,88
8	0	53,44	46,56
10	0	69,60	30,40

Les alkylphénols, produits de dégradation finaux, sont persistants, bioaccumulables et perturbent l'activité endocrinienne (Acir & Guenther 2018). Le nonylphénol (NP) et l'octylphénol (OP) figurent sur la liste des substances dangereuses prioritaires de la directive-cadre sur l'eau de l'Union européenne. Par conséquent, les études environnementales sur les AP sont plus nombreuses que sur les APEO, en particulier les homologues qui comprennent plus de 5 groupements éthoxy sont très peu étudiés. Plusieurs études ont montré que les concentrations en AP et APEO dans l'environnement ont diminué depuis les années 2000 (Bergé et al. 2012), notamment en Europe, suite à leur interdiction et à la recherche de substitutions (INERIS 2016). Néanmoins, des NPEO et OPEO ont été quantifiés dans diverses matrices environnementales (Tableau 9). Globalement, les concentrations en NPEO sont supérieures aux OPEO, ce qui reflète leur utilisation plus élevée. Les concentrations en NPEO dans les eaux usées brutes se situent entre la dizaine et la centaine de µg/L et les OPEO entre la centaine de ng/L et le µg/L. Après traitement en station d'épuration, les concentrations en NPEO sont de l'ordre du µg/L et entre la dizaine et la centaine de ng/L pour les OPEO. Enfin, dans les eaux de surface, les concentrations en NPEO reportées sont de l'ordre de la centaine

de ng/L et les OPEO sont très rarement quantifiés avec des méthodes d'analyse aux seuils de quantification de 10 ng/L. Dans les matrices environnementales solides, boues et sédiments, les concentrations en NPEO sont de l'ordre du mg/kg, et celles en OPEO, environ dix fois inférieures.

Tableau 9: Aperçu des concentrations retrouvées en APEO dans les matrices environnementales entre 2000 et 2020

Fraction	Matrice	Homologues recherchés	Concentrations moyennes ou min - max en µg/L pour le dissous et en µg/kg pour le particulaire	Références
Dissoute	Eau de surface	NP ₁₋₅ EO	0,05 - 0,26	Loyo-Rosales et al. 2003
		OP ₁₋₅ EO	< 0,05	
		NP ₁₋₄ EO	< 0,05 - 1,5	Barber et al. 2015
		OP ₁₋₄ EO	< 0,01 - 0,01	
	Eau usée brute	NP ₁₋₅ EO	158	Loyo-Rosales et al. 2007
		OP ₁₋₅ EO	4,76	
		NP ₄₋₁₆ EO	556	
		NP ₁₋₄ EO	1,6 - 200	Barber et al. 2015
		OP ₁₋₄ EO	0,12 - 1,0	
		NP ₁₋₈ EO	3,6 - 21	Ciofi et al. 2016
		OP ₁₋₈ EO	0,4 - 1,3	
	Eau usée traitée	NP ₁₋₅ EO	12,5	Loyo-Rosales et al. 2007
		OP ₁₋₅ EO	0,77	
		NP ₄₋₁₆ EO	2,78	
		NP ₁₋₄ EO	< 0,05 - 28	Barber et al. 2015
		OP ₁₋₄ EO	< 0,01 - 5,2	
		NP ₁₋₈ EO	1,3 - 4,1	Ciofi et al. 2016
		OP ₁₋₈ EO	0,2 - 0,4	
Particulaire	Sédiment	NP ₁₋₅ EO	427 - 3330	Loyo-Rosales et al. 2003
		OP ₁₋₅ EO	< 76 - 259	
	Boue	NP ₁₋₁₅ EO	920 - 3290	Andreu et al. 2007
		OP ₁₋₁₅ EO	870 - 3690	
		NP ₃₋₁₂ EO	16 - 11754	Koh et al. 2009
		NP ₁ EO	3200 - 4700	Fernandez-Sanjuan et al. 2009

Les principales préoccupations concernant les APEO dans l'environnement résultent des propriétés œstrogéniques des AP, notamment les NP. Les NP sont généralement traités comme

un composé unique dans l'évaluation de leur présence dans l'environnement, de leur devenir et de leur transport, de leur traitement ou de leur toxicité. Cependant, les nonylphénols techniques (tNP) sont en fait un mélange de plus de 100 isomères et congénères. Des études récentes ont montré que certains de ces isomères se comportent de manière sensiblement différente en termes d'occurrence, d'œstrogénicité et de biodégradabilité (Lu & Gan 2014). Selon les isomères, les temps de demi-vie peuvent être 3 à 4 fois plus longs. Des études sur l'activité endocrinienne ont également montré que les AP para substitués présentent une activité plus forte que les AP ortho ou méta substitués.

2.4- BAC et DDAC

Comme ils sont chargés positivement, les BAC et DDAC, ont plus d'affinité pour la phase particulaire que pour la phase dissoute, en raison des interactions amphiphiles et électrostatiques avec les surfaces des particules chargées négativement (Figure 25).

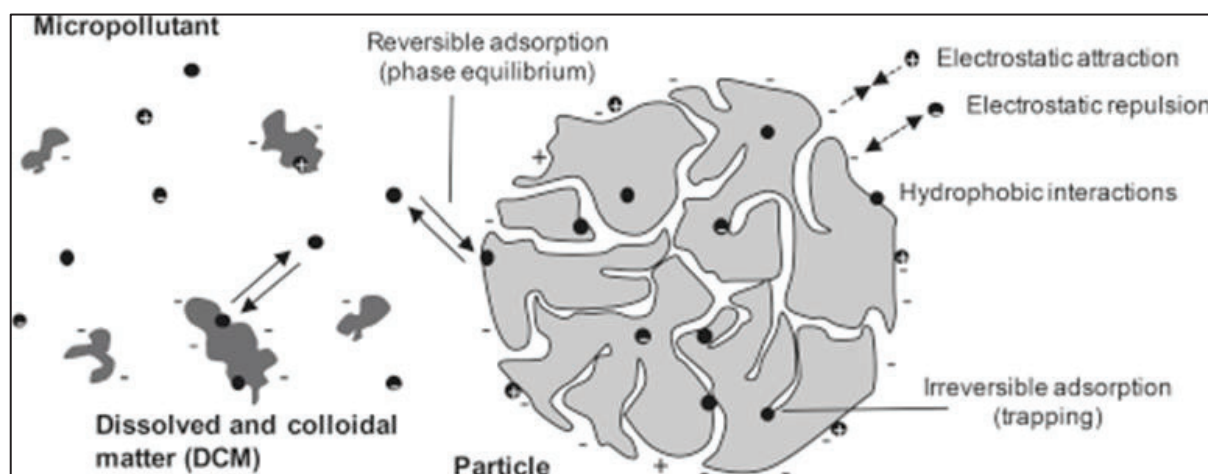


Figure 25: Interactions entre les micropolluants et les matières en suspension selon leur charge (Margot et al. 2015)

Ils sont enrichis dans les boues d'épuration et les sédiments en raison de leurs propriétés physicochimiques et de leur non-biodégradabilité en milieu anoxique (Martinez-Carballo et al. 2007a). Par conséquent, les BAC et DDAC sont plus recherchés dans les matrices solides environnementales que dans la fraction dissoute. De plus, comparé aux LAS et AES, les concentrations dans les eaux usées brutes sont faibles, ce qui est lié à leur utilisation moindre

alors que dans les boues et sédiments, elles sont bien plus élevées (Tableau 10). Plus précisément, dans les eaux usées brutes, les concentrations en BAC et DDAC se situent entre la dizaine et la centaine de µg/L et les concentrations en BAC sont plus élevées qu'en DDAC.

Tableau 10: Aperçu des concentrations retrouvées en BAC et DDAC dans les matrices environnementales entre 2000 et 2020

Fraction	Matrice	Homologues recherchés	Concentrations moyennes ou min - max en µg/L pour le dissous et en µg/kg pour le particulaire	Références
Dissoute	Eau de surface	BAC-C ₁₂₋₁₈	< 0,03 - 2,2	Martinez-Carballo et al. 2007b
		DDAC-C ₁₀₋₁₈	< 0,04 - 0,3	
		BAC-C ₁₂₋₁₄	0,0007 - 0,001	Li et al. 2020
	Eau usée brute	BAC-C ₁₂₋₁₈	105	Clara et al. 2007
		DDAC-C ₁₀₋₁₈	91	
		BAC-C ₁₂₋₁₈	38 - 251	Martinez-Carballo et al. 2007b
		DDAC-C ₁₀₋₁₈	9 - 46	
		BAC-C ₁₂₋₁₆	7,1	Ostman et al. 2017
		DDAC-C ₁₀	1,9	
		BAC-C ₁₂₋₁₄	1,8 - 2,5	Li et al. 2020
	Eau usée traitée	BAC-C ₁₂₋₁₈	0,5	Clara et al. 2007
		DDAC-C ₁₀₋₁₈	1,2	
		BAC-C ₁₂₋₁₈	0,2 - 3,5	Martinez-Carballo et al. 2007b
		DDAC-C ₁₀₋₁₈	< 0,04 - 1,1	
		BAC-C ₁₂₋₁₆	0,07	Ostman et al. 2017
		DDAC-C ₁₀	0,01	
		BAC-C ₁₂₋₁₄	0,006 - 0,01	Li et al. 2020
Particulaire	Sédiment	BAC-C ₁₂₋₁₈	1023	Martinez-Carballo et al. 2007a
		DDAC-C ₁₀₋₁₈	582	
		BAC-C ₁₂₋₁₈	1218	Li et al. 2018
		DDAC-C ₈₋₁₀	295	
	Boue	BAC-C ₁₂₋₁₈	20750	Martinez-Carballo et al. 2007a
		DDAC-C ₁₀₋₁₈	22300	
		BAC-C ₈₋₁₈	940 - 191000	Ruan et al. 2014
		DDAC-C ₈₋₁₈	370 - 202000	
		BAC-C ₁₂₋₁₆	58167	Ostman et al. 2017
		DDAC-C ₁₀	11697	

Les abattements en station d'épuration sont bons, ce qui a pour conséquence des concentrations dans les eaux usées traitées entre la dizaine et la centaine de ng/L, et environ dix fois inférieures dans les eaux de surface. Cependant, les concentrations très élevées dans les boues, entre la dizaine et la centaine de mg/kg, révèlent que ces composés sont majoritairement adsorbés, et non pas dégradés. Des concentrations de l'ordre du mg/kg sont également retrouvées dans les sédiments. Parmi les homologues recherchés dans les eaux, les concentrations les plus élevées sont celles des BAC-C₁₂ et C₁₄ (Paijens et al. 2021) et du DDAC-C₁₀. En ce qui concerne la phase particulaire, ce sont celles des BAC-C₁₂ et C₁₄ et du DDAC-C₁₈. Cependant, une étude récente sur des carottes de sédiments a montré que cette distribution peut varier avec le temps et le lieu (Dai et al. 2018). En effet, avant sa restriction d'usage, le BAC-C₁₈, l'homologue le plus hydrophobe, était majoritaire. Concernant les DDAC, le DDAC « mixte » C₁₆:C₁₈, qui est très rarement recherché, représente 30% des DDAC retrouvés, sur un des sites (Figure 26).

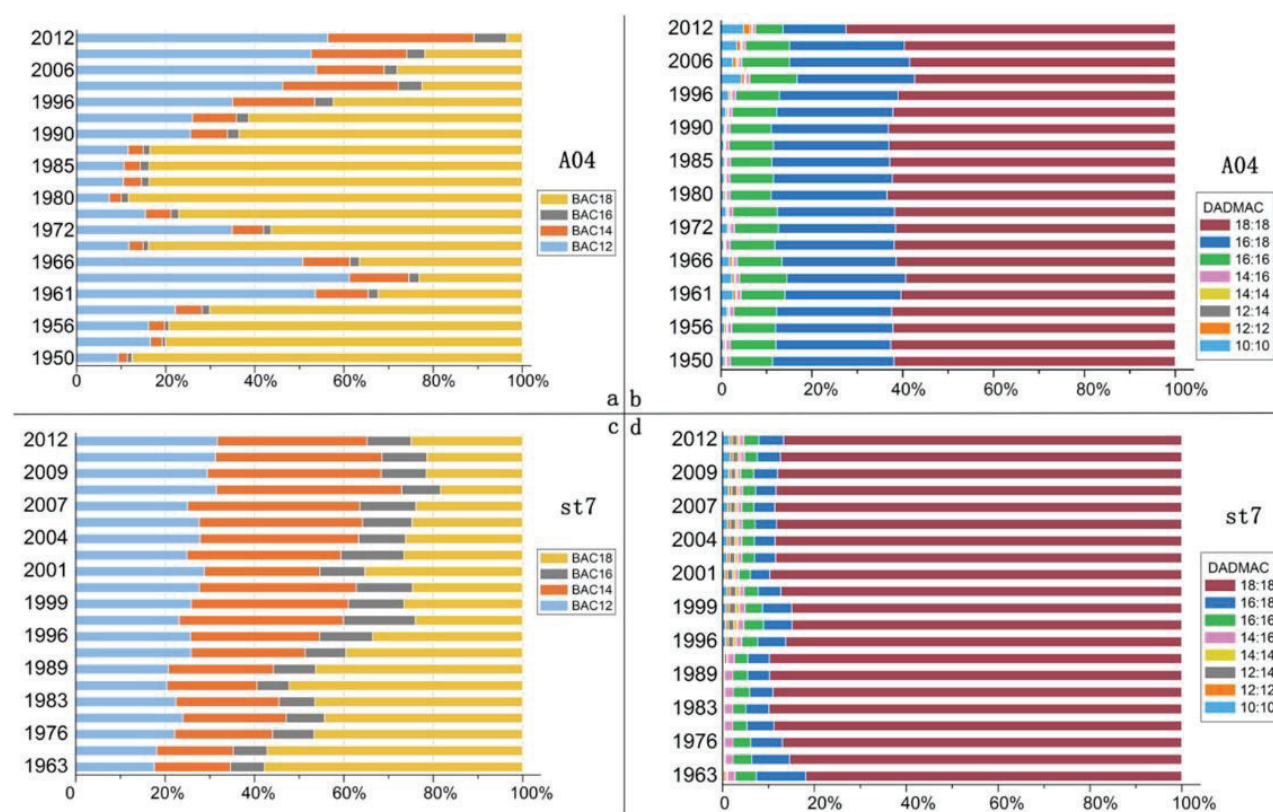


Figure 26: Compositions des homologues des BAC et DDAC dans des carottes de sédiments provenant de deux sites différents (Dai et al. 2018)

Les mécanismes de biodégradation des ammonium quaternaires sont partiellement connus. En général, leur biodégradabilité en conditions aérobies diminue avec le nombre de groupes alkyles

non méthyliques ($R_4N^+ < R_3MeN^+ < R_2Me_2N^+ < Me_4N^+$, où Me = méthyle) (Jardak et al. 2016). On pense que la biodégradation de l'alkyl triméthyl ammonium et de l'alkyl diméthyl ammonium commence avec une N-désalkylation, suivie d'une N-déméthylation. Les sels d'alkyltriméthylammonium seraient biodégradés en triméthylamine par N-désalkylation. Par la suite, la triméthylamine est dégradée en diméthylamine, qui est encore dégradé en méthylamine. Cependant, l'oxydation initiale des tensioactifs cationiques ne peut avoir lieu sans la présence d'oxygène. Dans des conditions anaérobies, les ammonium quaternaires présentent une biodégradation limitée ou nulle, ce qui explique les concentrations élevées en BAC et DDAC dans les boues et sédiments. Ces niveaux élevés pourraient poser un problème du point de vue de la résistance bactérienne, car il a été démontré que les bactéries exposées aux ammonium quaternaires acquièrent à la fois une résistance à ceux-ci et une résistance aux antibiotiques (Ostman et al. 2017). En outre, il a été démontré que les ammonium quaternaires peuvent toujours être actifs contre les bactéries même lorsqu'ils sont adsorbés sur les boues.

2.5- Tensioactifs peu recherchés dans l'environnement

Les homologues des six autres familles de tensioactifs étudiées dans cette thèse ont été très peu recherchés dans les matrices environnementales. Le Tableau 11 résume les concentrations retrouvées.

En ce qui concerne les surfynols, seul le surfynol 104 (noté également TMDD) a été recherché. Les concentrations dans les eaux usées sont de l'ordre du $\mu\text{g/L}$ (Guedez & Puettmann 2011). Etant majoritairement utilisé en tant qu'anti-émulsifiant dans les peintures, les encres d'imprimerie et pour le traitement des surfaces, ses principales sources sont les eaux usées des industries de recyclage du papier et des usines produisant de la peinture et de l'encre d'imprimerie (Guedez & Puttmann 2014). Les concentrations dans les eaux traitées sont environ deux fois inférieures à celles dans les eaux brutes, ce qui indique un abattement relativement faible, d'environ 50% par les stations d'épuration. Une étude de dégradation du surfynol 104 dans des sols stérilisés et non-stérilisés a montré un taux de dégradation inférieur à 50% au bout de 40 jours (Hurtado et al. 2017), révélant la faible biodégradabilité de cette molécule. Il en résulte des concentrations non négligeables dans les eaux de surface, de l'ordre de la centaine de ng/L (Dsikowitzky et al. 2015), et sa présence dans l'eau potable (Loraine & Pettigrove 2006). Ces concentrations sont tout de même bien inférieures aux concentrations ayant des

effets écotoxiques sur les poisson-zèbres, qui sont de l'ordre du mg/L (Vincze et al. 2014). Cependant, une toxicité du surfynol 104 sur les algues a également été observée lors d'une analyse basée sur l'effet (Effect Directed Analysis (EDA)) d'eaux de rivière (Tousova et al. 2017).

Tableau 11: Concentrations retrouvées dans les matrices environnementales en surfynol, cocamide, alkylpyridinium, TEAQ, amidoamine, et alkylbétaine

Type	Famille	Homologues recherchés	Matrice	Concentrations moyennes ou min - max en µg/L pour le dissous et en µg/kg pour le particulaire	Références
Non Ionique	Surfynol	Surfynol 104 ^a	Eau de surface	0,50	Guedez et al. 2010
			Eau de surface	0,04 - 5,3	Dsikowitzky et al. 2015
			Eau potable	0,61	Loraine et al. 2006
			Eau usée brute	1,2	Guedez et al. 2011
			Eau usée recyclée	1,1	Loraine et al. 2006
			Eau usée traitée	0,63	Guedez et al. 2011
	Cocamide	Cocamide MEA	Eau usée brute	0,03	Bergé et al. 2018
			Eau usée traitée	< 0,01	Bergé et al. 2018
		Cocamide DEA	Eau de mer	0,13 - 2,8	Gonzalez et al. 2004
			Eau usée brute	4,9 - 260	Gonzalez et al. 2004
			Eau usée traitée	1,3 - 100	Gonzalez et al. 2004
			Sédiment marin	11 - 323	Gonzalez et al. 2004
Cationiq.	Alkyl pyridinium	Laurylpyridinium	Eau usée brute	< 0,1 - 0,35	Bergé et al. 2018
			Eau usée traitée	< 0,01 - 0,25	Bergé et al. 2018
		Cetylpyridinium	Eau usée traitée	0,005	Ostman et al. 2017
			Boue digérée	1713	Ostman et al. 2017
	TEAQ	TEAQ-C ₁₆	Eau usée brute	100	Bergé et al. 2018
			Eau usée traitée	7,3	Bergé et al. 2018
	Amidoamine	Stearamidopropyl DMA	Eau usée brute	2,0	Bergé et al. 2018
			Eau usée traitée	0,75	Bergé et al. 2018
Zwitt.	Alkyl bétaine	Cetyl bétaine	Eau usée brute	1,9	Bergé et al. 2018
			Eau usée traitée	0,2	Bergé et al. 2018

^a Selon les articles, le surfynol 104 (nom commercial) est également noté TMDD pour 2,4,7,9-Tetraméthyl-5-decyne-4,7-diol

Trois études ont été publiées concernant les cocamide MEA (CMEA), cocamide DEA (CDEA) et une amidoamine, la stearamidopropyl DMA (SADP-DMA). D'après celles-ci, les

concentrations dans les eaux usées brutes en CDEA, entre 4,9 et 26 µg/L (Gonzalez et al. 2004), et SADP-DMA, de l'ordre de 2 µg/L, sont beaucoup plus élevées que celles en CMEA, de l'ordre de 30 ng/L (Bergé et al. 2018). Les concentrations basses en CMEA peuvent être expliquées soit par une faible utilisation, soit par une biodégradabilité rapide de cette molécule. En effet, la CMEA fait partie des tensioactifs à fonction amide, considérés comme facilement hydrolysables (Lundberg et al. 2008). Les concentrations retrouvées en CDEA et SADP-DMA dans les eaux usées traitées sont relativement élevées, proches du µg/L. De plus, ces deux tensioactifs ont une forte affinité pour la phase particulaire : les concentrations dans les boues se situent entre 1 et 10 mg/kg (Petrovic & Barcelo 2000) et le pourcentage de SADP-DMA dans la phase particulaire est de l'ordre de 80% (Bergé et al. 2018). A notre connaissance, aucune donnée concernant l'écotoxicité de ces tensioactifs n'a été publiée.

Enfin, deux études récentes concernent les tensioactifs cationiques et amphotères, TEAQ, Alkylpyridinium et cetylbétaïne. Les concentrations en TEAQ dans les eaux usées brutes sont très élevées, reflétant leur taux d'utilisation à de forts tonnages. D'après les concentrations retrouvées dans les eaux traitées, ces composés sont bien abattus par les stations d'épuration. Par contre, comme les BAC et DDAC, cet abattement est principalement lié à l'adsorption de ces composés, en raison de leur charge cationique. Ceci est confirmé par des concentrations élevées dans les boues (Ostman et al. 2017), les matières en suspension (Bergé et al. 2018) et les sols (Brownawell et al. 1990).

Points clés de la partie 2

- Sur les douze familles de tensioactifs étudiées, les LAS, AES, AS, APEO et BAC et DDAC ont été recherchés dans de nombreuses études, mais celles-ci ne concernent qu'un nombre restreint d'homologues ou isomères. Pour les 6 familles restantes, le nombre de données est faible voire nul dans le milieu récepteur.
- Les trois familles qui sont produites/importées en Europe à des tonnages supérieurs à 100 000 par an (les LAS, les Sodium Lauryl Ether Sulfate (SLES) et les TEAQ) présentent des concentrations élevées dans les eaux usées brutes, supérieures à 100 µg/L.
- Les tensioactifs sont en général bien abattus par les stations d'épuration mais :
 - Les produits de dégradation formés sont souvent inconnus.
 - Les produits de dégradation des APEO sont des perturbateurs endocriniens avérés.
 - Les tensioactifs cationiques sont majoritairement abattus par adsorption sur les matrices solides et ne sont que très partiellement dégradés.
- Les tensioactifs sont présents à la fois dans les fractions dissoutes et particulières.

3- Analyse des tensioactifs dans les matrices environnementales

Les tensioactifs sont largement utilisés dans les industries et dans les produits domestiques. Ces substances se retrouvent inévitablement dans divers compartiments de l'environnement. La détermination des tensioactifs dans différents échantillons environnementaux est devenue une problématique analytique qui pourrait être résolue par l'élaboration de nouvelles méthodes (Kurrey et al. 2019). Les principales difficultés rencontrées au cours de l'analyse des tensioactifs sont :

- (i) un mélange complexe de divers composés souvent présent dans les matrices environnementales, qui sont elles-mêmes de nature complexe. Le prétraitement de l'échantillon et l'analyse des tensioactifs sont donc délicats ;
- (ii) la sélection de solvants appropriés en fonction des différentes structures chimiques des tensioactifs nécessaires à la séparation avant leur analyse quantitative ;
- (iii) en raison de leur nature amphiphile, les tensioactifs peuvent être fortement adsorbés sur les surfaces, par exemple, les flacons en verre de laboratoire, les particules solides contenues dans l'échantillon et les appareils utilisés ;
- (iv) la disponibilité limitée des solutions standard commerciales (également des analytes marqués aux isotopes) (Olkowska et al. 2014).

La complexité chimique des tensioactifs, qui sont souvent des mélanges d'homologues, d'oligomères et d'isomères, a conduit dans le passé à la mise au point de méthodes simples et peu coûteuses, spécifiques à une classe de substances, basées sur la gravimétrie, les dosages complexométriques ou acido-basiques et la colorimétrie (Di Corcia et al. 1999). Les tensioactifs anioniques ont été généralement déterminés par méthodes spectrophotométriques utilisant le bleu de méthylène (BM) (Bidari et al. 2010). Cette méthode normée est utilisée afin de déterminer les LAS dans échantillons d'eau de surface et d'eau du robinet (ISO 7875-1). La méthode est basée sur la formation de paires d'ions extractibles au chloroforme de couleur bleue entre les LAS et le BM cationique. Cela nécessite trois extractions successives avec 15, 10 et 10 mL de chloroforme pour 100 mL d'échantillon. La paire d'ions est déterminée par spectrophotométrie, en mesurant l'absorbance à 650 nm. De même, une méthode basée sur la formation d'un complexe avec le bleu de disulfine est toujours utilisée pour la détermination des tensioactifs cationiques (Martinez-Carballo et al. 2007b).

Pour plusieurs raisons, ces méthodes d'analyse ne sont plus adéquates pour quantifier les tensioactifs dans les matrices environnementales. D'une part, elles mettent en œuvre des solvants toxiques tels que le chloroforme, en grandes quantités. D'autre part, elles manquent de sensibilité et souffrent d'interférences dues à la présence de composés naturels similaires. Par exemple, Becagli et al. 2011 ont comparé les concentrations en LAS mesurées par chromatographie liquide (LC) couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), à celles obtenues par la méthode basée sur le bleu de méthylène. Cette étude a révélé que les concentrations mesurées par LC-MS/MS étaient beaucoup plus faibles que celles des analyses par spectrophotométrie, en raison d'une contribution importante d'autres molécules que les LAS à la réponse spectrophotométrique. Enfin, elles ne permettent pas de distinguer les différents homologues. Les approches spectroscopiques, telles que l'infrarouge et la résonance magnétique nucléaire, fournissent des données sur l'identification des tensioactifs. Cependant, même ces techniques sont limitées par la matrice et leur incapacité à séparer et à quantifier la distribution des homologues (Di Corcia et al. 1999). Seules les techniques basées sur une séparation chromatographique liquide ou gazeuse le permettent.

Les tensioactifs sont des composés peu volatils. En dépit de ces caractéristiques défavorables, des développements majeurs dans l'identification et la quantification des tensioactifs ont été réalisés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), après formation de dérivés appropriés (Di Corcia et al. 1999). Ces méthodes sont capables de déterminer les homologues, oligomères et isomères avec une spécificité et une sensibilité élevées. Cependant, elles nécessitent un prétraitement intensif des échantillons et la conversion des tensioactifs en dérivés volatils, ce qui rend ces protocoles plutôt longs. Plusieurs réactifs (par exemple, le trifluoroéthanol) ont été testés pour les tensioactifs anioniques. En ce qui concerne les tensioactifs non-ioniques, certains métabolites (les AP et les APEO à chaîne courte) sont suffisamment volatils pour être analysés directement par GC, mais la plupart des APEO doivent d'abord être dérivés, en utilisant l'iodure de méthylène, le chlorure de n-propanol/acétylène, le bromure de pentafluorobenzyle ou le bromure d'hydrogène (Lara-Martin et al. 2008).

Les techniques basées sur une séparation par chromatographie liquide paraissent donc les plus adaptées, compte-tenu des propriétés physico-chimiques des tensioactifs. Les méthodes de LC couplées à une détection par Ultra-Violet ou fluorimétrie ont été reportées (Di Corcia et al.

1999), notamment pour les LAS et les BAC. Cependant, elles présentent un manque de spécificité analytique, qui peut entraîner des difficultés d'identification et de quantification, surtout dans les matrices complexes. L'utilisation de la spectrométrie de masse (MS) comme technique de détection permet de surmonter ces problèmes (Martinez-Carballo et al. 2007b). En effet, la MS est préférée aux autres détecteurs car elle permet d'identifier sans équivoque les analytes en mesurant leur masse d'origine et en affichant des schémas de fragmentation spécifiques après leur ionisation et leur rupture, respectivement. Les méthodes d'analyse par LC-MS, en particulier par LC-MS/MS, apparaissent donc comme les techniques de choix pour la détermination des tensioactifs dans l'environnement.

Le développement de méthodes d'analyse par LC-MS comprend un grand nombre d'étapes qui sont délicates à optimiser car elles sont interdépendantes. La Figure 27 donne une vision globale de cette optimisation .

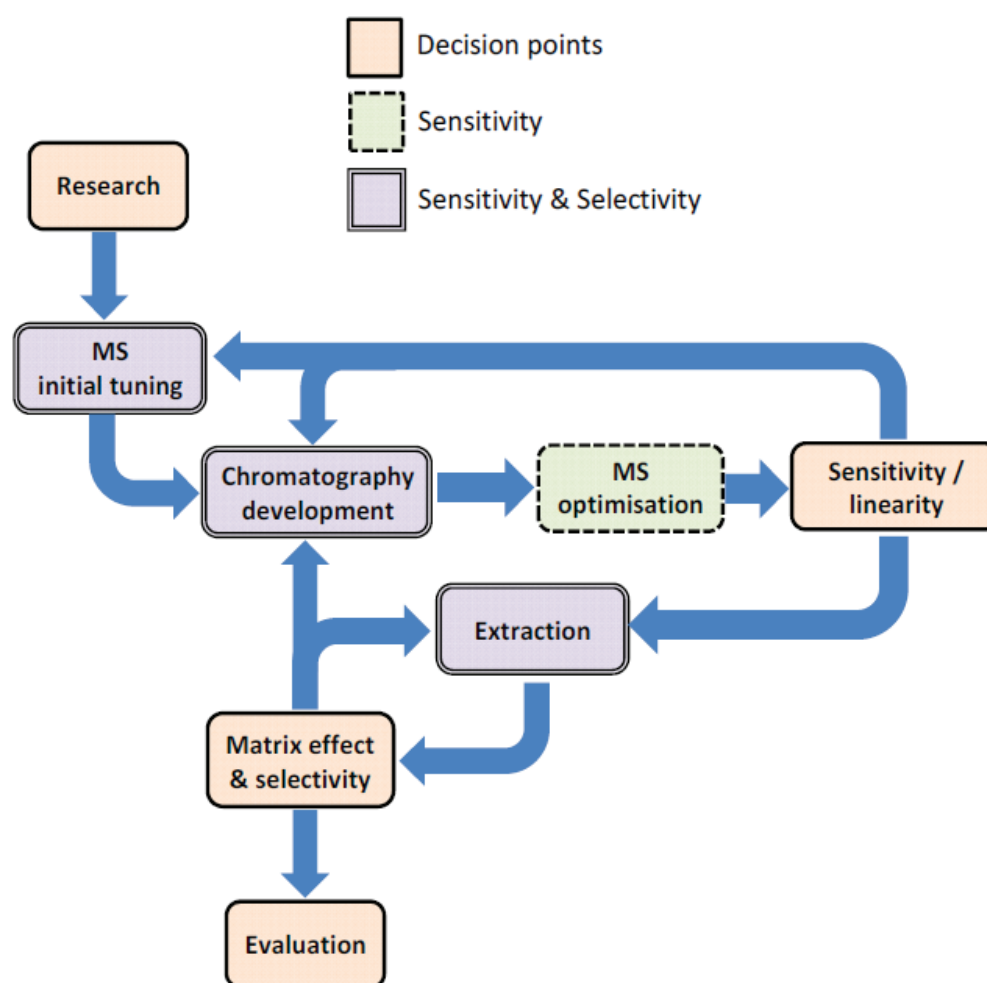


Figure 27: Etapes d'optimisation d'une méthode LC-MS (Sargent 2013)

En effet, afin d'obtenir une sensibilité en accord avec les faibles concentrations présentes dans l'environnement, les échantillons sont généralement pré-concentrés durant l'extraction. Cependant, au cours de cette étape plus ou moins spécifique, non seulement les composés d'intérêt sont pré-concentrés, mais également les interférents de la matrice. La LC-MS est reconnue pour être sensible à ces interférents qui créent des suppressions ou des augmentations de signal, que l'on appelle « effets de matrice », notamment pendant l'ionisation (Taylor 2005). La Figure 28 représente les différents mécanismes d'une source d'ionisation par électrospray (ESI).

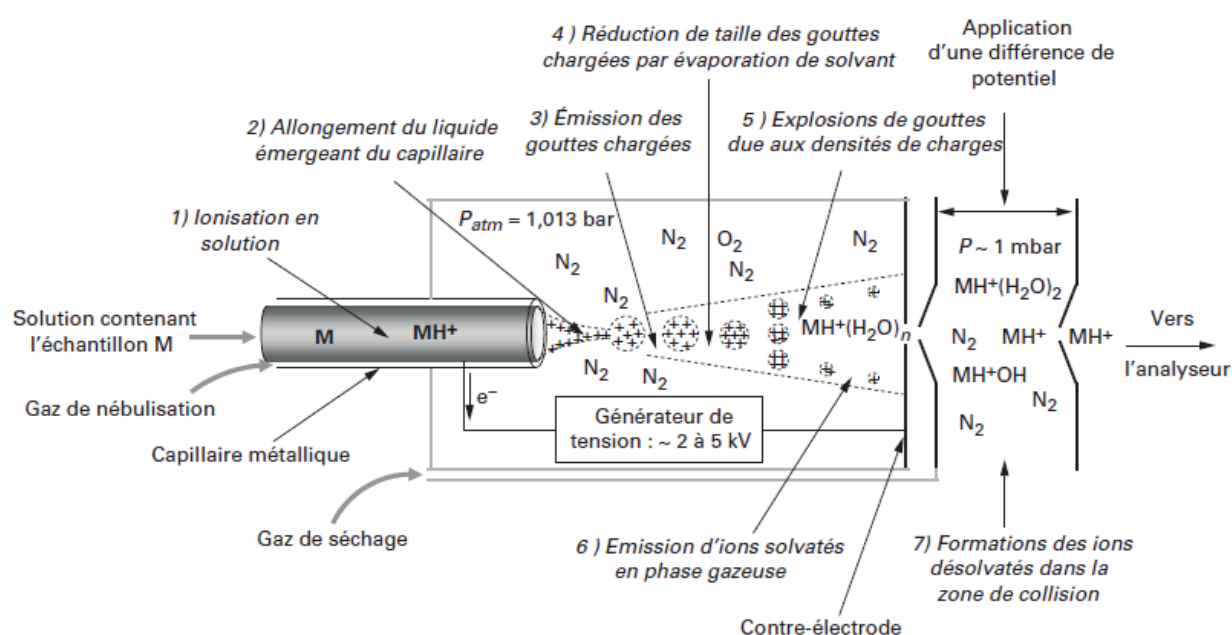


Figure 28: Description d'une source d'ionisation par électro-nébulisation (électrospray) et des principales étapes de formation d'ions (Rondeau 2017)

Ces étapes sont indispensables à la bonne détection des composés puisqu'elles permettent de passer d'une molécule neutre à l'état liquide à une molécule chargée, à l'état gazeux. Les principes théoriques qui régissent ces effets de matrice restent à ce jour peu connus mais deux principaux mécanismes, qui permettent de les expliquer, ressortent :

- Compétition pour les charges entre les composés d'intérêt et les interférents de la matrice
- Présence d'interférents qui stabilisent les gouttelettes et empêchent les composés d'intérêt de passer sous forme gazeuse.

Les tensioactifs eux-mêmes sont reconnus pour être à l'origine de ce dernier mécanisme (Rundlett & Armstrong 1996). On comprend ainsi aisément toute l'importance de la préparation d'échantillons dont l'impact est élevé sur la qualité des résultats d'analyse.

3.1- Préparation d'échantillons

Le développement de méthodologies capables de quantifier les analytes dans des matrices présentant différentes complexités est l'un des grands défis de la chimie analytique. Plus précisément, dans l'analyse d'échantillons environnementaux, la complexité de la matrice et/ou la faible concentration des analytes signifie généralement qu'une étape de préparation de l'échantillon est nécessaire avant l'analyse instrumentale (Carasek et al. 2018). L'étape de préparation de l'échantillon joue un rôle important dans le développement des méthodes. En général, cette étape représente la majeure partie du temps consacré à l'analyse, l'exactitude et la précision dépendant fortement du choix adéquat d'une technique de préparation de l'échantillon. Certaines techniques classiques ont été largement appliquées pour les déterminations de routine, notamment l'extraction liquide-liquide (LLE) et l'extraction solide-liquide (SLE), avec une efficacité très satisfaisante. Toutefois, on peut noter un certain nombre de limitations, notamment l'utilisation de grandes quantités de solvants organiques toxiques et les longs délais généralement nécessaires pour les extractions. De plus, en particulier dans le cas de la LLE, l'obtention de facteurs de préconcentration limités et la possibilité d'émulsion peuvent affecter l'efficacité de l'extraction et la précision de l'analyse. En plus de ces difficultés techniques et pratiques, l'obtention de méthodes d'analyse respectueuses de l'environnement est devenue une préoccupation majeure dans un certain nombre de laboratoires.

Deux stratégies peuvent être adoptées pour développer ou optimiser une préparation d'échantillon :

- **Extraction sélective** : elle consiste à développer une extraction privilégiée des composés d'intérêt par rapport aux interférents de la matrice et implique donc que les composés et les interférents aient des propriétés physico-chimiques différentes. Les paramètres à optimiser peuvent être nombreux (nature et volume de solvant, température, ...), ce qui implique un temps de développement relativement long. Mais une fois l'extraction développée, une étape de purification supplémentaire peut être généralement évitée, ce qui induit un temps d'analyse plus court.

- Extraction exhaustive : elle consiste à développer une méthode d'extraction à large spectre, ce qui permet de pouvoir extraire plusieurs composés d'intérêt en une seule étape, mais qui implique un extrait final plus chargé en interférents et parfois impossible à injecter tel quel dans des instruments comme ceux de LC-MS. C'est l'approche privilégiée dans le cas du développement de méthodes d'analyse multi-résidus.

3.1.1- Matrices liquides

En ce qui concerne les échantillons d'eau, différentes techniques d'extraction telles que l'extraction liquide-liquide (LLE), les techniques de microextraction, y compris la microextraction en phase solide, la microextraction en phase liquide et la microextraction dispersive liquide-liquide ont été appliquées dans l'analyse environnementale (Fontanals et al. 2020). Néanmoins, l'extraction en phase solide (SPE) est la technique de préparation d'échantillons la plus couramment utilisée, à la fois pour enrichir les contaminants et pour éliminer les interférences de la matrice. Cette large applicabilité est attribuée à la disponibilité de différents sorbants pour la SPE qui permettent de retenir des composés ayant un large éventail de propriétés et de caractéristiques. En outre, selon le choix du sorbant, la sélectivité et la capacité ou les deux peuvent être optimisées.

Le Tableau 12 dresse un aperçu des techniques de préparation d'échantillons des matrices environnementales liquides (eau de surface, eau usée brute et traitée) pour l'analyse des tensioactifs. Dans 15 des 18 études répertoriées, la technique utilisée est l'extraction sur phase solide (SPE), les autres techniques étant l'évaporation et la LLE. Cette dernière est de moins en moins utilisée pour plusieurs raisons : elle nécessite l'emploi de solvants apolaires, souvent toxiques et les facteurs d'enrichissement sont moins élevés que ceux de la SPE. De plus, la LLE est un processus d'équilibre, qui nécessite de répéter plusieurs fois l'extraction (Wells 2000). Grâce à l'utilisation de sorbants à haute capacité, la SPE permet des facteurs d'enrichissement élevés entre 100 et 4000. Les sorbants à base de polymères qui peuvent être greffés avec des fonctions hydrophiles sont un exemple de sorbants à haute capacité et interagissent de manière non spécifique avec les composés polaires. C'est le cas de la phase « Oasis HLB », à base de polyvinylpyrrolidone-divinylbenzène qui est la plus utilisée, aussi bien pour les tensioactifs non-ioniques que ioniques.

Tableau 12: Aperçu des méthodes d'extraction des tensioactifs anioniques, non-ioniques et cationiques dans les matrices environnementales liquides (continue page suivante)

Homologues recherchés	Matrice	Conservation	Prise d'essai (mL)	Filtration	Pré-traitement	Type d'extraction	Masse Phase (mg)	Solvant d'éluion 1	Solvant d'éluion 2	Evap	Filtration avant injection	Rendement (%)	Références
LAS C ₁₀ -C ₁₃	Eau de surface (lagon)	4% Form., 4°C	100	np	pH 2,5 H ₃ PO ₄	SPE C18	500	MeOH/acétone 50/50	DCM/EtOAc 50/50	à sec	Non	70 - 107	Traverso-Soto et al. 2015
LAS C ₁₀ -C ₁₄	Eau de surface	0,5 mL/L HCl 1M	100	0,45 µm	Non	SPE C18	500	MeOH		à sec	Non	66 - 95	Sakai et al. 2017
LAS C ₁₀ -C ₁₃	Eaux usées	4°C, stocké à -18°C	1 (traitée) 0,1 (brute)	Non	Décantation	Evaporateur rotatif					Non	91 - 115	Freeling et al. 2019
C ₁₂₋₁₄ EO ₉ S	Eaux usées	4°C, stocké à -18°C	10 (traitée) 0,05 (brute)	Non	Décantation	Evaporateur rotatif					Non	90 - 114	Freeling et al. 2019
LAS C ₁₀ -C ₁₄ C ₁₂₋₁₆ AS C ₁₂₋₁₆ EO ₁₋₄ S	Eaux usées traitées	2,5% Form. -80°C	100	11 µm papier filtre		SPE Oasis HLB	500	MeOH		à sec	Non	81 - 103	McDonough et al. 2016
C ₁₂ AS C ₁₂ EO ₁₋₄ S	Eaux usées	np	np	Non	Non	SPE charbon actif	np	MeOH/DCM hydroxyde de tetramethy/NH ₄		à sec	Non	np	Huber et al. 2013
LAS C ₁₂ C ₁₂ AS	Eaux usées brutes	np	3	np	np	SPE C18	500	MeOH/eau 90/10		Non	Non	87 - 109	Santos et al. 2015
NP ₁₋₅ EO OP ₁₋₅ EO	Eau de surface	4°C, extrait dans les 24 h	4000	0,7 µm fibre de verre	Non	SPE PS-DVB	500	DCM	MeOH puis acétone	à sec	0,2 µm PVDF	36 - 96	Loyo-Rosales et al. 2003
NP ₁₋₈ EO OP ₁₋₈ EO	Eaux usées	4°C, pH 2,4 HCl 6M, analysé dans les 48 h	2	0,2 µm membrane de cellulose régénérée		SPE en ligne C18	np	0,1 mM AF	ACN/THF 10/90		Non	np	Cioffi et al. 2016
NP ₂₋₂₀ EO OP ₂₋₂₀ EO	Eau de surface	np	500	Non	Non	SPE Oasis HLB	200	MeOH/MTBE 10/90		à sec	Non	40	DeArmond 2013
Surfynol 104	Eau de surface	4°C	1000	Papier filtre	Non	SPE PS-DVB	100	MeOH/ACN 50/50		Non	Non	np	Guedez et al. 2010

Homologues recherchés	Matrice	Conservation	Prise d'essai (mL)	Filtration	Pré-traitement	Type d'extraction	Masse Phase (mg)	Solvant d'élution 1	Solvant d'élution 2	Evap	Filtration	Rendement (%)	Références
BAC-C ₁₂₋₁₈ DDAC-C ₁₀₋₁₈	Eau de surface Eaux usées	Azoture de sodium, LAS stocké à -18°C	500	Non	pH < 1 HCl	LLE		Chloroform		à sec	Non	63 - 114	Martinez-Carballo et al. 2007b
BAC-C ₁₂₋₁₆ DDAC-C ₁₀ ^a Cetylpyridinium	Eaux usées	np	200	Centri	0,01% de NH ₄ OH (25%)	SPE Oasis HLB	200	MeOH 5% AF	EtAc	à 0,2 mL	Non	29 - 60	Ostman et al. 2017
LAS C ₁₀ -C ₁₃ CDEA NP ₁₋₂ EO	Eau de surface Eaux usées	4°C	500 (surface) 200 (traitée) 100 (brute)	0,45 µm	Non	SPE C18	500	MeOH		à sec	Non	73 - 90	Gonzalez et al. 2004
LAS C ₁₀ -C ₁₃ NP ₂₋₁₅ EO	Eau de surface (mer)	4% Form., 4°C	1000	0,7 µm fibre de verre	pH 3	SPE Oasis HLB	500	MeOH/DCM 67/33		à sec	Non	65 - 108	Lara-Martin et al. 2011
LAS C ₁₀ -C ₁₃ BAC-C ₁₂₋₁₄	Eau de surface Eaux usées	4°C, pH 2,5 H ₂ SO ₄	1000 (surface) 500 (traitée) 200 (brute)	Non	Décantation	SPE Oasis HLB	500	DCM	MeOH	à 1 mL	Non	71 - 107	Li et al. 2020
LAS C ₁₀ -C ₁₃ , C ₁₂₋₁₄ AS Cocamide MEA OP ₇₋₁₁ EO, SADP-DMA BAC-C ₁₂₋₁₄ , TEAQ-C16 Laurylpyridinium Cetylbétaïne	Eaux usées	4°C, extrait dans les 48 h	200 (traitée) 100 (brute)	0,7 µm fibre de verre	Non	SPE C8/ aminopropyl	200	ACN	ACN NH ₄ OH 5%	à sec	Non	89 - 114	Berge et al. 2016

Abréviations utilisées :

np	non précisé	AF	Acide formique
MeOH	Méthanol	HAc	Acide acétique
ACN	Acétonitrile	EtAc	Acétate d'éthyle
DCM	Dichlorométhane	Form.	Formaldéhyde
IPA	Isopropanol	PS-DVB	Polystyrène Divinylbenzène
THF	Tetrahydrofurane		
MTBE	Méthyl tert-butyl éther		

DeArmond & DiGoregorio 2013 ont comparé les rendements d'extraction obtenus des AP et APEO, en fonction des phases solides et solvants d'élution utilisés (Figure 29). La cartouche SPE Oasis HLB™ apparait clairement comme celle permettant d'obtenir les meilleurs rendements, en combinaison avec un mélange 90/10 MTBE/MeOH comme solvant d'élution. On peut également observer que les rendements des composés à chaîne alkyle plus longues, et donc plus hydrophobes, sont plus faibles. De plus, le meilleur rendement pour l'homologue en C18 est obtenu avec la cartouche silice greffée C18. En effet, les composés les plus hydrophobes sont tellement retenus sur la cartouche Oasis HLB qu'ils peuvent être difficiles à éluer.

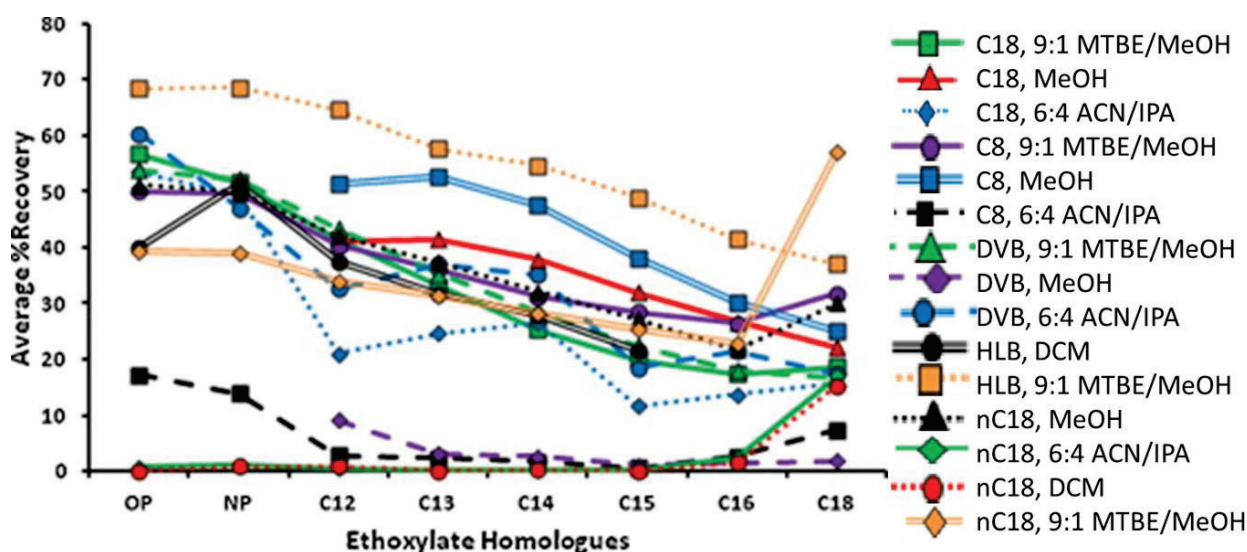


Figure 29: Rendements d'extraction des AP et APEO en fonction de différentes phases solides (silices greffées C18, C8, nC18 (non-endcappé) et polymériques (Oasis HLB et divinylbenzène (DVB)) et solvants d'élution (d'après DeArmond & DiGoregorio 2013)

En ce qui concerne les eaux usées (Tableau 12), toutes les cartouches SPE utilisées pour l'extraction ont des masses de phase élevées, supérieures à 200 mg, afin d'éviter toute saturation des sites actifs de la phase solide. Les solvants d'élution sont différents d'une étude à l'autre mais le méthanol apparait dans 12 études sur 18, et semble donc avoir une bonne affinité pour les tensioactifs. Après élution, la majorité des études utilisant la SPE ajoutent une étape d'évaporation, souvent à sec, afin de reprendre l'extrait dans un volume de solvant plus faible et ainsi d'augmenter encore le facteur d'enrichissement et/ou dans un solvant compatible avec l'analyse qui suit.

Même si la SPE est toujours la convention actuelle pour la préconcentration des analytes dans des matrices environnementales complexes, elle présente certains inconvénients. Le temps

d'extraction est assez long, elle génère des déchets liquides et solides et elle peut entraîner une perte d'analyte en raison d'une élution incomplète, d'une percée ou d'une volatilisation pendant l'échange de solvants (Backe & Field 2012). De plus, les cartouches SPE peuvent également relarguer des interférents tels que des plastifiants, voire même des tensioactifs. C'est le cas des cartouches Oasis HLB qui, d'après McDonough et al. (2016), se sont avérées contenir certains agents de surface anioniques. Afin d'éliminer cette contamination, les auteurs nettoient les cartouches SPE par trempage pendant une nuit avec du méthanol avant extraction. La SPE en ligne permet de diminuer drastiquement le temps de préparation d'échantillons et de limiter la contamination (Ciofi et al. 2016). Par contre, des conditions d'analyse optimum sont difficiles à trouver lorsque l'on cherche à développer une méthode pour analyser simultanément des composés aux propriétés physico-chimiques diverses. Une autre stratégie intéressante est l'injection large volume (LVI) qui consiste à injecter directement dans le système LC un volume supérieur à 500 μL . Backe & Field (2012) ont par exemple utilisé la LVI pour analyser des tensioactifs perfluorés dans des eaux usées, filtrées à 1 μm , avec un volume d'injection de 750 μL . Comparée à la SPE en ligne, cette technique est plus facile à mettre en œuvre puisqu'elle ne nécessite pas l'ajout d'équipements supplémentaires à la LC, telles qu'une pompe LC et une vanne de commutation. Enfin, en raison d'une contamination avérée des solvants et de l'équipement de laboratoire par les LAS, Freeling et al. (2019) ont opté pour l'utilisation d'un évaporateur rotatif sous vide. Cette technique a été préférée à la SPE car tous les contenants en contact avec les échantillons pouvaient être calcinés à 550 °C pour éliminer tout résidu potentiel de tensioactif, ce qui n'est pas possible avec le collecteur et les cartouches SPE. Malheureusement, le temps et la température d'évaporation ne sont pas renseignés dans cette étude et des pertes par volatilisation sont possibles. De plus les facteurs d'enrichissement sont plus faibles que par SPE, du fait d'un volume initial de prise d'essai limité à 10 mL.

Un dernier point qui n'est que très rarement discuté dans les publications, et qui peut pourtant avoir un impact élevé sur le résultat d'analyse, est le pré-traitement des échantillons avant extraction. Afin d'arrêter toute activité microbienne et de limiter la dégradation des composés d'intérêt, environ la moitié des études du Tableau 12 ajoutent, dès le prélèvement, un agent chimique acide (acides chlorhydrique ou sulfurique) ou du formaldéhyde. Ensuite, afin d'éliminer les particules en suspension, la plupart des méthodes comprennent une étape de filtration avec des granulométries différentes (entre 0,2 et 11 μm) et divers matériaux (cellulose, fibre de verre et papier filtre). Cette étape est primordiale puisque des analytes peuvent être retenus sur le matériau de filtration. La présence de particules ou colloïdes peut influencer le

rendement d'extraction, notamment par SPE. Li et al. (2020) ont étudié l'influence d'une filtration à 0,45 μm (filtre en Téflon) sur les concentrations retrouvées en LAS, BAC et autres polluants émergents, dans de l'eau Milli Q et de l'eau de rivière (Figure 30). Cette étude montre une perte due à la filtration pour la plupart des composés étudiés, en particulier les BAC. On peut également remarquer que l'impact est plus fort sur l'eau Milli-Q que sur l'eau de rivière.

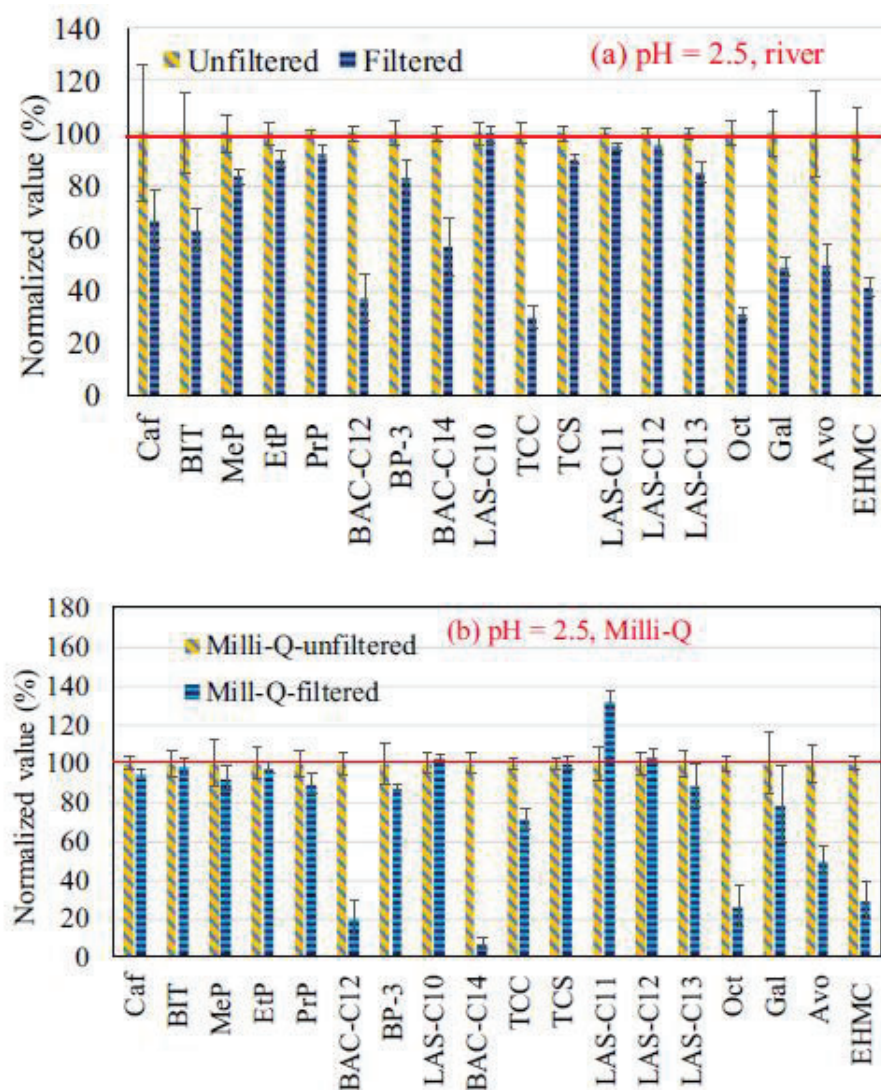


Figure 30: Concentrations des composés d'intérêt dans de l'eau de rivière et de l'eau Milli-Q, avec ou sans filtration.. Les concentrations des échantillons sans filtration sont normalisés à 100% (Li et al. 2020)

Afin d'éviter cette perte et également une contamination potentielle en tensioactif liée au contact de l'échantillon avec le matériau de filtration, Li et al. (2020) et Freeling et al. (2019) ont eu recours à une décantation. Loyo-Rosales et al. (2003) ont calciné les filtres en fibre de verre à 0,7 μm à 400°C, pendant 4h, afin d'éliminer tout résidu d'APEO. Enfin, afin de limiter

les contaminations, la plupart des études concernant les tensioactifs reportent des méthodes de nettoyage de la verrerie drastiques, notamment par des calcinations à des températures allant de 100 à 550°C, pendant un temps de 4h à une nuit ou par l'utilisation d'acides (nitrique, sulfochromique) ou de divers solvants organiques (méthanol, dichlorométhane, chloroforme).

3.1.2- Matrices solides

La capacité d'adsorption d'un composé et les interactions avec les matrices environnementales mises en jeu ont un fort impact sur le devenir de ce composé. Une bonne connaissance de ces mécanismes et interactions peut contribuer au choix d'une méthode d'extraction appropriée (Poole 2013).

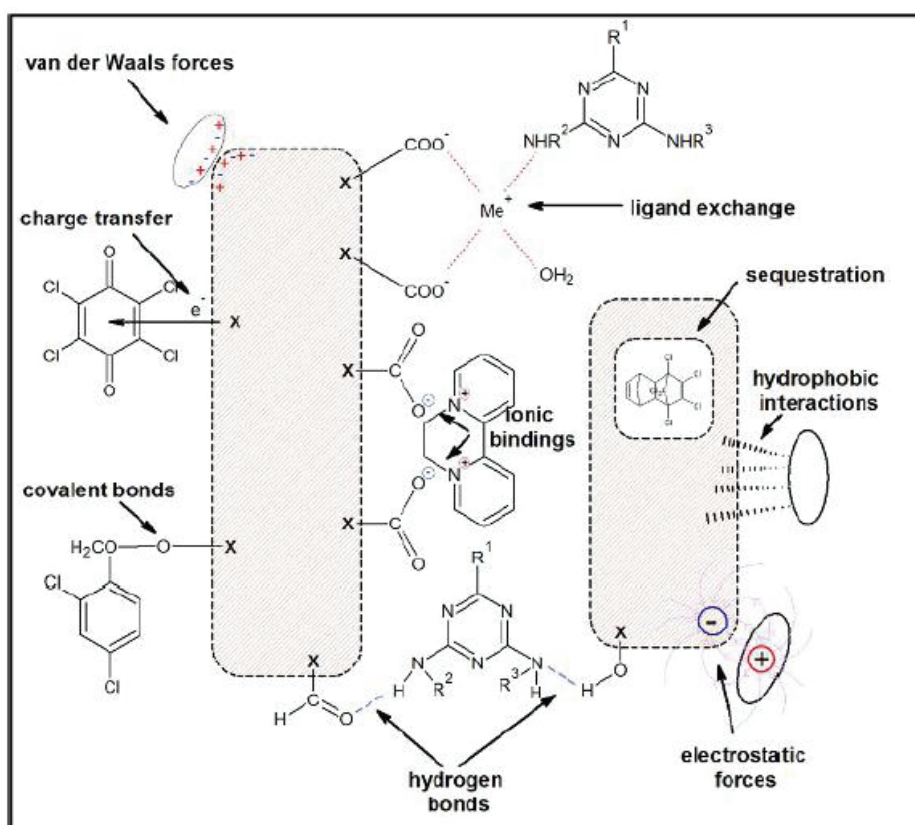


Figure 31: Schéma représentant certains types d'interactions entre les fonctions chimiques et la matière organique du sol (Poole 2013)

Les mécanismes de rétention impliqués dans l'adsorption peuvent s'expliquer par différents processus. Dans certains cas, l'adsorption est dominée par un seul type d'interaction. Cependant, dans la plupart des cas, différents types d'interactions apparaissent simultanément, en raison par exemple des différentes fonctions chimiques présentes sur une substance et/ou de différents

compartiments de la matrice environnementale, comme les argiles, la matière organique, etc. Ces interactions peuvent être regroupées en trois grandes catégories: l'adsorption physique et chimique, la liaison covalente, la séquestration ou piégeage. Une illustration des principaux mécanismes d'interaction d'adsorption entre les groupes fonctionnels des composés et la matière organique dans le sol et les sédiments est présentée dans la Figure 31.

Les énergies de liaison de ces différentes interactions sont très différentes de l'une à l'autre et on peut les classer de la plus faible à la plus forte : Van der Waals (0,5 – 5 kJ/mol) < hydrophobe (5 – 10 kJ/mol) < dipôle-dipôle (5 – 50 kJ/mol) < liaison hydrogène (4 – 120 kJ/mol) < échange de ligand (50 – 150 kJ/mol) < interaction ionique (100 – 350 kJ/mol) < liaison covalente (250 - 800 kJ/mol). L'interaction ionique est la plus forte des liaisons électrostatiques. Si une substance est sous forme cationique, elle peut interagir avec les sites le plus souvent anioniques des sols ou sédiments. Cette interaction a une énergie comparable à la liaison covalente mais elle est réversible. Enfin, certaines molécules peuvent être piégées dans la matrice. En effet, les matrices solides ont une structure complexe qui se compose de particules et de pores de tailles diverses. L'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) propose une classification des pores en fonction de leur taille : micropore (< 2 nm), mésopore (2-50 nm) et macropore (> 50 nm). Les pores à l'échelle nanométrique ont des dimensions comparables à celles des molécules organiques. La majorité des micropores sont situés dans les fractions argileuses et/ou organiques. Les substances dissoutes sont transférées dans les cavités nanométriques comportant des sites actifs polaires et hydrophobes. Ces processus de transport sont contrôlés par des processus thermodynamiques irréversibles et peuvent donc conduire à des résidus encapsulés ou piégés de manière irréversible, appelés « non-extractable residues ». La présence de résidus non-extractibles a été démontrée grâce à l'utilisation de molécules marquées avec un isotope notamment pour des substances pharmaceutiques comme le sulfamethoxazole (Goulas et al. 2019) et la carbamazépine (Li et al. 2013).

De par ces interactions plus ou moins fortes entre les composés d'intérêt et les matrices environnementales solides, l'extraction de ceux-ci nécessite un apport d'énergie conséquent, que ce soit l'agitation mécanique, la température, la pression ou des ondes.

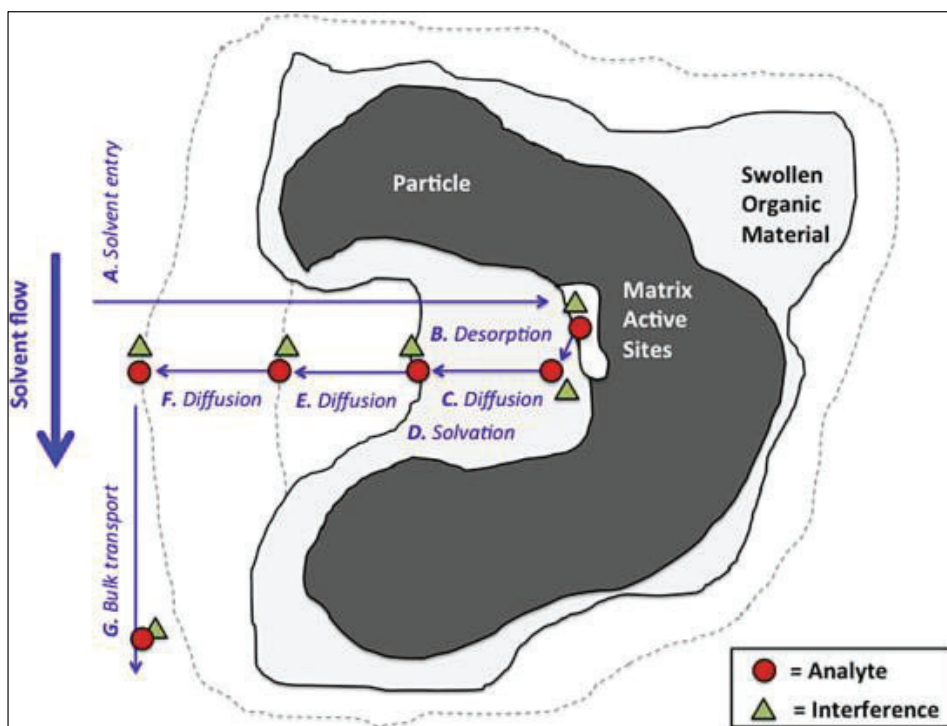


Figure 32: Etapes d'extraction de substances chimiques de matrices solides (Subedi et al. 2015)

La Figure 32 représente les différentes étapes permettant au solvant d'extraction de désorber les composés d'intérêt et montre la complexité des mécanismes en jeu lors de l'extraction. L'énergie apportée permet à la fois de forcer le solvant à entrer dans les pores de la matrice, même les plus fins, et de casser les liaisons entre les composés et les sites actifs de la matrice. Une très bonne solubilité du composé d'intérêt dans le solvant d'extraction est donc primordiale lors de cette étape.

Une autre conséquence des interactions qui se créent entre les composés et les matrices solides est liée au dopage des échantillons. En effet, afin de déterminer les rendements d'extraction d'une méthode, voire de réaliser des courbes d'étalonnage en matrice extraite, il est d'usage de doper la matrice avec les composés d'intérêt : une petite quantité de solvant dans lequel les substances sont solubilisées, est ajoutée à la matrice, souvent juste avant l'extraction. Cette pratique peut induire une surestimation du rendement (Michael et al. 2017), puisque les interactions entre la matrice et les composés dopés sont forcément plus faibles que celles dans les échantillons réels. Peu d'études rapportent les conditions dans lesquelles ce dopage est effectué, et quand elles le sont, elles sont très variables, avec des temps de contact allant de 10 minutes à 1 nuit, et des modes d'homogénéisation différents. Plus les interactions entre les composés d'intérêt et la matrice sont fortes, plus l'écart entre le rendement sur matrice dopée

et sur les échantillons réels peut être grand. Sachant que les teneurs en fractions argileuses et organiques des matrices solides sont variables, cet écart peut également varier en fonction des échantillons. Il dépend également des molécules ciblées, les substances pouvant créer des interactions ioniques, comme les ammonium quaternaires, étant les plus sujettes à de fortes interactions (Li & Brownawell 2010).

Le Tableau 13 résume les méthodes d'extraction des tensioactifs dans les matrices environnementales solides (sédiment, boue, sol et compost). On retrouve les trois types d'apport d'énergie : agitation mécanique (Vortex, oscillation avec des billes en Zirconium), température (Soxhlet), température et pression (Pressurized Liquid Extraction (PLE)) et ondes (Ultrasons). Mais dans la majorité des études, ce sont la PLE ou l'extraction par ultrasons (UAE, pour Ultrasound-assisted Extraction) qui sont utilisées. Différents paramètres expliquent ce choix : temps d'extraction, volume de solvant utilisé et coût. En effet, les temps d'extraction sont très variables, de 10 et 30 minutes respectivement pour la PLE et les ultrasons, à 18h avec la méthode Soxhlet. Cette dernière est également la méthode la plus consommatrice de solvant et c'est aussi pourquoi elle est de moins en moins utilisée. Enfin, l'UAE peut être réalisée à l'aide d'un bain à ultrasons, qui est assez peu onéreux.

Les températures d'extraction vont de la température ambiante à 120°C avec la PLE. Une température élevée augmente généralement les rendements d'extraction, mais elle peut également entraîner des pertes par dégradation. C'est le cas par exemple des alkylphénols pour lesquels une température inférieure à 50°C est recommandée (Petrovic et al. 2002). Les masses de prises d'essais se situent majoritairement entre 0,1 g pour les boues et 5 g pour les sédiments. Une seule étude porte sur 35 g de sédiment. En théorie, l'augmentation de la prise d'essai devrait permettre d'augmenter la sensibilité d'une méthode d'analyse. Mais elle augmente également la quantité d'interférents de la matrice présents dans l'extrait final, ce qui peut engendrer des suppressions de signal en LC-MS/MS, et finalement diminuer la sensibilité.

Tableau 13: Aperçu des méthodes d'extraction des tensioactifs anioniques, non-ioniques et cationiques dans les matrices environnementales solides (continue page suivante)

Homologues recherchés	Matrice	Prise d'essai (g)	Pré-traitement	Tamissage (µm)	Type d'extraction	T°C	Temps (min)	Solvants	Purification	Masse phase (mg)	Solvants d'élution	Evap	Filtration	Rendement (%)	Références
LAS C ₁₀ -C ₁₃	Sédiment	4	Lyoph Broyage	2000	PLE (Na ₂ SO ₄)	120	3*5	MeOH	SPE C18	500	MeOH/acétone, 50/50 puis DCM/EtAc 50/50	à sec	Non	70 - 107	Traverso-Soto et al. 2015
LAS C ₁₀ -C ₁₃	Sédiment	0,5	Lyoph Broyage	np	Ultrasons	50	3*30	MeOH	SPE Oasis HLB	500	MeOH/DCM, 67/33	à sec	Non	68 - 101	Lara-Martin et al. 2011
LAS C ₁₀ -C ₁₃	Compost	0,5	Lyoph Broyage	2000	Ultrasons	np	3*10	Acétone (n=2), puis MeOH	SPE Oasis MCX	60	Acétone/MeOH	à sec	Non	67 - 110	Gonzalez et al. 2010
C ₁₂₋₁₃ EO ₀₋₈ S	Sédiment	35	Lyoph	Non	Ultrasons	np	2*30	MeOH	Aucune			à sec	Non	np	Sanderson et al. 2006b
C ₁₂ AS ^a C ₁₂ EO ₁₋₄ S	Sédiment	np	Lyoph	Non	Vortex	np	np	MeOH	SPE charbon actif	np	MeOH/DCM hydroxyde de tetramethyl/NH ₄	à sec	Non	np	Huber et al. 2013
C ₁₂₋₁₈ AS	Boue	1	Lyoph Broyage	100	Ultrasons	np	2*7	MeOH/HAc 95/5	dSPE C18	800		à sec	0,2 µm	72 - 98	Abril et al. 2018
NP ₁₋₃ EO OP ₁₋₃ EO	Sédiment	1	Sous vide	Non	PLE (Na ₂ SO ₄)	100	3*15	Acétone/hexane 50/50	SPE Aminopropyl /Cu/Na ₂ SO ₄	500	Acétone	à sec	0,2 µm PVDF	83 - 99	Loyo-Rosales et al. 2003
NP ₁₋₃ EO OP ₁₋₃ EO	Sol/Boue	5	Tamb 24h	2000	PLE (Na ₂ SO ₄)	60	2*8	Acétone/hexane 50/50	SPE C18	np	MeOH	> 1 mL	Non	89 - 102	Andreu et al. 2007
NP ₃₋₁₂ EO	Boue	0,2	Lyoph	Non	Vortex	Tamb	2*30	MeOH/Acétone 50/50	SPE Silice	500	MeOH 10% HAc	à sec	Non	55 - 90	Koh et al. 2009

Homologues recherchés	Matrice	Prise d'essai (g)	Pré-traitement	Tamissage (µm)	Type d'extraction	T°C	Temps (min)	Solvants	Purification	Masse phase (mg)	Solvants d'élution	Evap	Filtration	Rendement (%)	Références
BAC-C ₁₂₋₁₈ DDAC-C ₁₀₋₁₈	Sédiment Boue	5 (séd.) 1 (boue)	30°C Broyage	0,63	Soxhlet	np	18 h	MeOH 1% HCl (37%)	Aucune			à sec	Non	73 - 95	Martinez-Carballo et al. 2007a
BAC-C ₁₂₋₁₆ DDAC-C ₁₀ ^a Cetylpyridinium	Boue	1	Lyoph	Non	Oscillation billes Zr	Tamb	3*4	MeOH 5% AF, puis MeOH, puis MeOH 5% triéthylamine	SPE Oasis HLB	200	5% AF MeOH, puis EtAc	-> 0,2 mL	Non	72 - 166	Ostman et al. 2017
BAC-C _{8,18} DDAC-C ₈₋₁₈	Boue	0,1	Lyoph Broyage	Non	Ultrasons	60	3*60	MeOH IM HCl	LLE CHCl ₃ SPE éch. Anion.	3000	MeOH	-> 5 mL	Non	78 - 100	Ruan et al. 2014
LAS C ₁₀ -C ₁₃ CDEA NP _{1,2} EO	Sédiment	5	Lyoph Broyage	125	PLE (Hydro matrix)	50	2*5	MeOH/Acétone 50/50	SPE C18	500	MeOH	à sec	Non	56 - 86	Gonzalez et al. 2004
LAS C ₁₀ -C ₁₃ , C ₁₂₋₁₄ AS Cocamide MEA OP ₇₋₁₁ EO, SAMP-DMA BAC-C ₁₂₋₁₄ , TEAQ-Cl6 Laurylpyridinium Cetylbétaïne	Boue	0,5	Lyoph Broyage	2000	Vortex	Tamb	2*5	ACN, Tampon citrate NaCl, puis ACN 10% H ₂ SO ₄	SPE C8/ aminopropyl	200	ACN puis ACN 5% NH ₄ OH	à sec	Non	80 - 109 96 77 - 81 50 - 65 62 72	Bergé et al. 2016

Abréviations utilisées :

np non précisé
MeOH Méthanol
ACN Acétonitrile
DCM Dichlorométhane
THF Tetrahydrofurane
AF Acide formique
HAc Acide acétique
EtAc Acétate d'éthyle
Form. Formaldehyde
PLE Pressurized Liquid Extraction
SPE Extraction sur Phase Solide
dSPE SPE dispersive
Lyoph Lyophilisation

Les solvants d'extraction les plus souvent utilisés sont le MeOH seul, les mélanges MeOH/acétone et acétone/hexane. Dans l'étude de Gonzalez et al. 2010, différents solvants, mélanges de solvants, et temps d'extraction ont été étudiés pour l'analyse des LAS, NP, NPEO et le phtalate de di-2-éthylhexyle (DEHP) par UAE (Figure 33).

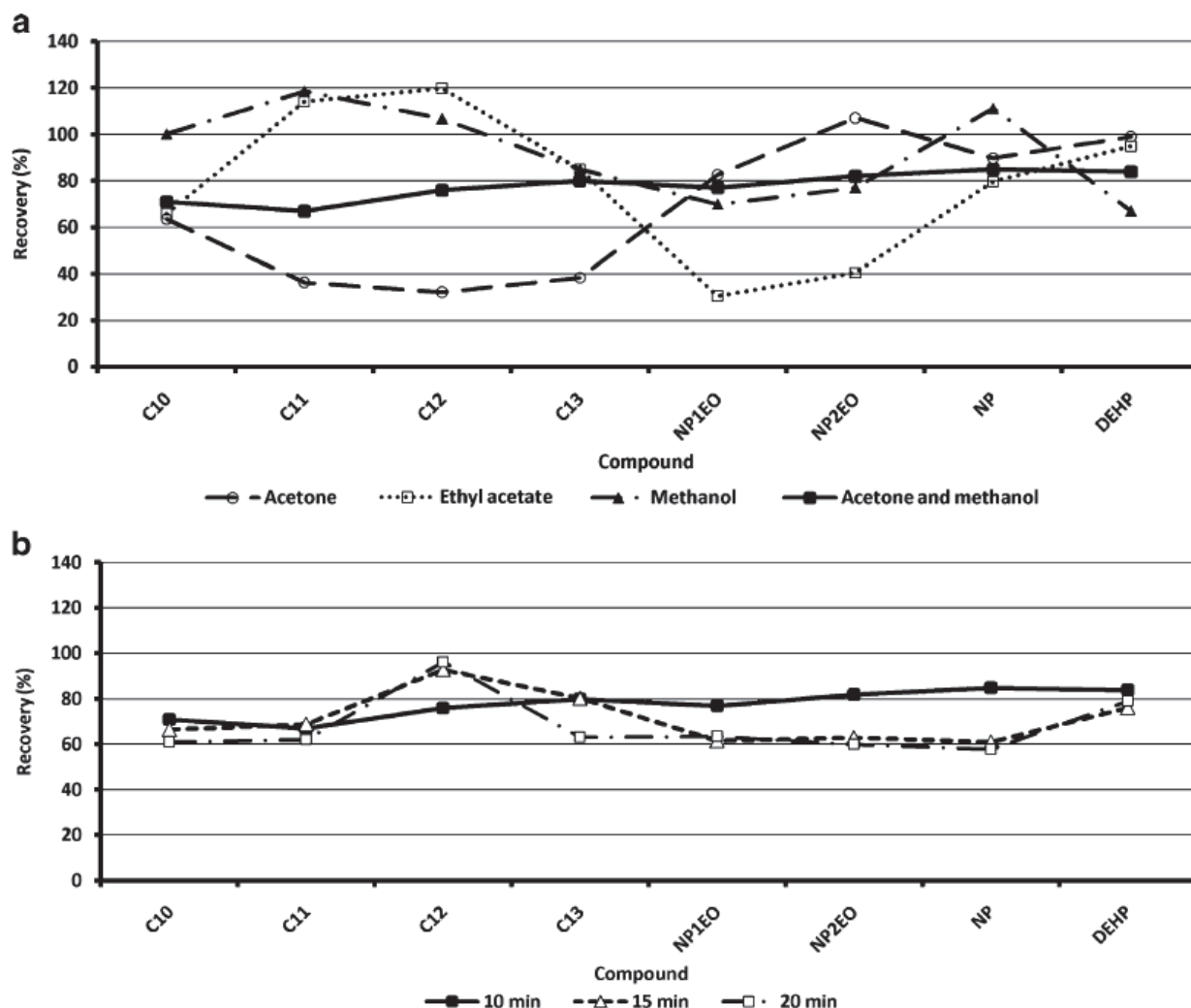


Figure 33: Rendements d'extraction des LAS C10 à C13, NP, NPEO et DEHP par ultrasons, en fonction (a) des solvants et (b) du temps d'extraction (Gonzalez et al. 2010)

Globalement, ce sont le méthanol et le mélange acétone/méthanol qui permettent d'obtenir les meilleurs rendements, bien que l'acétate d'éthyle soit le plus performant pour les LAS C11 et C12. Quant aux temps d'extraction, c'est finalement le temps le plus court, 10 minutes, qui donne les rendements les plus élevés, confirmant l'intérêt de l'UAE pour diminuer les temps de préparation d'échantillons. En ce qui concerne les tensioactifs cationiques (BAC et DDAC), on peut observer, dans le Tableau 13, la présence systématique d'un acide, acide formique ou

acide chlorhydrique. En effet, ces tensioactifs sont connus pour être difficiles à extraire des matrices solides environnementales, notamment en raison des interactions ioniques entre ces composés et les sites actifs anioniques (Li & Brownawell 2009). Les hydrogènes protonés apportés par l'acide se lient préférentiellement à ces sites actifs et libèrent ainsi les tensioactifs cationiques.

Un apport d'énergie lors de l'extraction est nécessaire pour casser les interactions entre les composés d'intérêt et la matrice, libérant ainsi les molécules ciblées mais également des interférents. Par conséquent, une étape de purification de l'extrait est très souvent indispensable avant de pouvoir l'injecter dans un instrument d'analyse. C'est ce que l'on peut voir dans le Tableau 13, dans lequel seulement une étude ne rapporte pas d'étape de purification. Dans les autres publications, la majorité ajoute une étape d'extraction sur phase solide (SPE), avec le même type de cartouche que pour les matrices liquides environnementales (voir Tableau 12). Une alternative intéressante à la SPE, et souvent plus rapide, est la « SPE dispersive » (d-SPE) mise en œuvre dans l'article de Abril et al. 2018. Dans celle-ci la phase solide n'est pas packée dans des cartouches mais dispersée dans un tube à centrifuger. Les interférents sont retenus sur la phase solide, purifiant ainsi l'extrait.

Enfin, comme pour les matrices liquides, l'impact de l'étape de prétraitement est très peu étudié dans la littérature, alors qu'elle peut être lourde de conséquence sur les résultats de l'analyse. Elle comprend trois étapes : séchage, broyage et tamisage. Dans la majorité des études du Tableau 13, le séchage est réalisé par lyophilisation. En effet, celle-ci est recommandée par rapport au séchage en étuve afin de limiter les pertes des composés les plus volatils. D'après Fernandez-Sanjuan et al. 2009, elle permet également d'augmenter les rendements d'extraction des alkylphénols, par rapport à une matrice non traitée. Pour ce qui est du tamisage, les pratiques sont très différentes d'une étude à l'autre, avec un tamisage allant de 0,63 μm à 2 mm, à aucun tamisage. Pourtant de nombreuses études ont déjà montré l'importance de cette étape, notamment pour les substances hydrophobes (El-Mufleh et al. 2014). Les concentrations retrouvées varient avec la granulométrie, les concentrations les plus élevées se trouvant sur les particules les plus fines. Ceci est souvent expliqué par le fait que les particules les plus fines sont plus riches en matière organique, pour laquelle les composés hydrophobes ont plus d'affinité.

3.2- Détection par LC-MS

Le couplage de la chromatographie liquide à la spectrométrie de masse (LC-MS) permet de séparer les molécules extraites d'un échantillon selon deux dimensions : la première en fonction de la rétention des composés sur la colonne de chromatographie liquide, appelée séparation chromatographique, et la seconde en fonction du rapport masse sur charge (m/z) du composé (Figure 34).

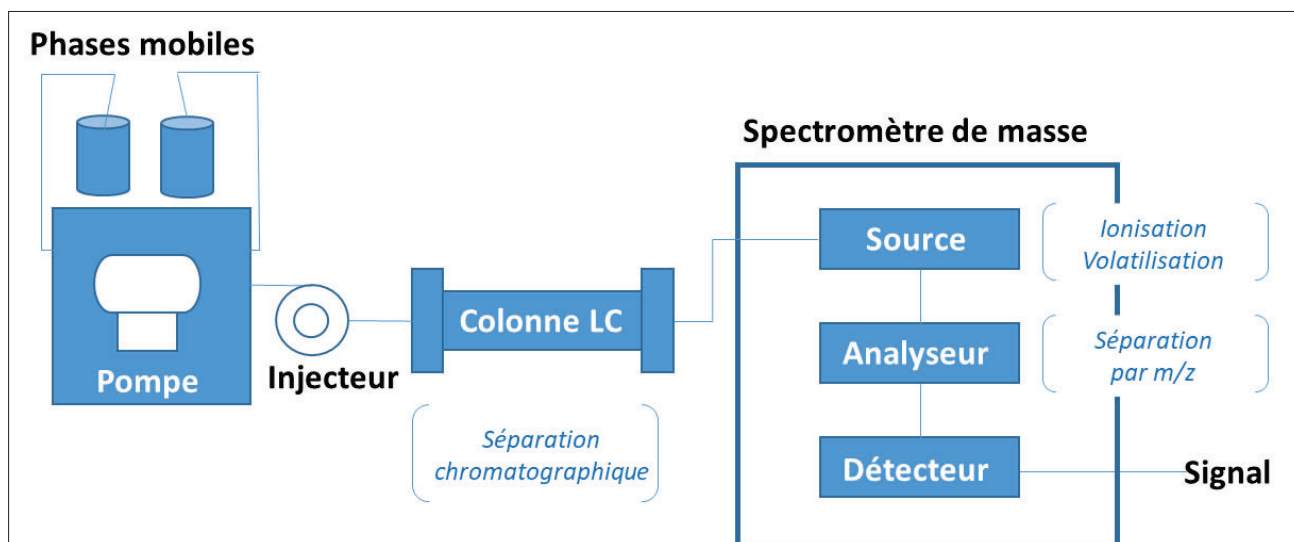


Figure 34: Schéma de principe du couplage chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS)

La LC-MS, et en particulier la LC-MS/MS, est une technique sensible et sélective, mais l'optimisation du couplage LC-MS peut s'avérer longue et laborieuse. En effet, de nombreux paramètres sont à optimiser sur le système LC (natures des phases stationnaires et mobiles, débit, dimension de colonne, température de four, volume et solvant d'injection) et le spectromètre de masse (voltages, température de source). Ces paramètres sont interdépendants, composé-dépendant et matrice-dépendant et ne peuvent être optimisés qu'expérimentalement. De plus, dans le cas d'une optimisation d'analyse multi-résidus de composés aux propriétés physico-chimiques diverses, les effets diffèrent d'une molécule à l'autre, ce qui impose de faire des compromis (Petrovic 2014).

D'autre part, la modification d'un paramètre en LC modifie également le signal en MS, et des résultats contradictoires peuvent même être obtenus. Par exemple, l'acétonitrile permet d'affiner les pics en LC, tandis qu'en MS, c'est le méthanol qui donne généralement les meilleurs rendements d'ionisation. Par ailleurs, avec l'arrivée des systèmes de chromatographie

liquide à ultra haute performance (UHPLC) qui supportent des contre-pressions allant jusqu'à 1200 bars, la tendance est à augmenter les débits, afin de diminuer les temps d'analyse, tout en gardant les mêmes niveaux de résolution et efficacité. Or, comme illustré par la Figure 35, le rendement d'ionisation du spectromètre de masse, et donc la sensibilité, diminuent drastiquement dès lors que le débit de LC est supérieur à 50 $\mu\text{L}/\text{min}$.

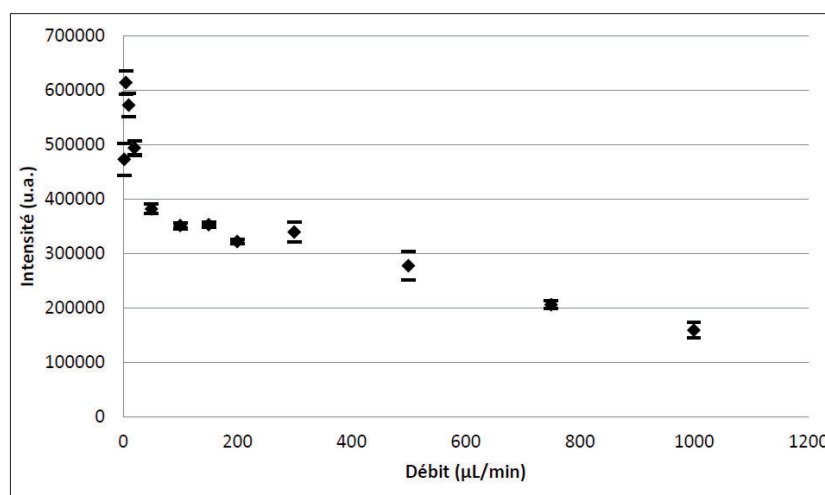


Figure 35: Evolution de l'intensité du pic de sulfathiazole dans la solution standard en fonction du débit compris entre 2 et 1000 $\mu\text{L}/\text{min}$ (Roser 2018)

Tableau 14 Le Tableau 14 donne un aperçu des méthodes d'analyse par LC-MS des tensioactifs dans les matrices environnementales, publiées entre 2004 et 2019. Une seule étude porte sur un couplage chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse, mis en place pour l'analyse du TMDD (nom commercial: surfynol 104®), pour lequel, à notre connaissance, aucune méthode par LC-MS n'a été publiée jusqu'à présent. Malgré le caractère ionique des tensioactifs, le mode de séparation chromatographique est la phase inverse, dans presque toutes les publications. Dans la majorité, une colonne silice greffée octadécyle (C18) est utilisée mais l'usage de colonnes en C8 est également rapporté. D'après Freeling et al. 2019, avec une colonne C18 et l'acétonitrile comme phase organique, la rétention des LAS est très faible. La rétention est augmentée en remplaçant l'acétonitrile par le méthanol mais les différents isomères des LAS sont séparés, ce qui oblige à intégrer plusieurs pics pour un homologue. L'utilisation d'une colonne C8, moins hydrophobe, permet d'obtenir une bonne rétention et de regrouper les différents isomères en un seul pic. Ostman et al. 2017 et Bergé et al. 2016 ont utilisé une colonne spécialement conçue pour l'analyse de tensioactifs (Acclaim Surfactant Plus, Thermo Scientific™) qui combine interactions hydrophobes et échanges anioniques.

Tableau 14: Aperçu des méthodes d'analyse par LC-MS des tensioactifs anioniques, non-ioniques et cationiques dans les matrices environnementales (solides en gras) (continue page suivante)

Homologues recherchés	Matrice	Solvant injection	Vol. inj. (µL)	Type de sép.	Colonne	Tampon Phase aqueuse	Solvant Phase organique	Détection	Adduit	Calc. LQ	LQ (µg/L ou µg/kg)	Quanti	IS	Références
LAS C ₁₀ -C ₁₃	Eau de surface (lagon)	MeOH/eau, 80/20	20	RP	C18	5mM HAC, 5mM TEA	MeOH	MS	[M] ⁻	S/B	<0,1	Interne ap. extraction	LAS C ₁₆	Traverso-Soto et al. 2015
LAS C ₁₀ -C ₁₄	Eau de surface	ACN/eau, 65/35	5	RP	C18	0,1 % AF, 5mM NH ₄ Form	ACN	MS/MS	[M] ⁻	10*SD (n=6)	33,4	Interne ap. extraction	LAS C ₈	Sakai et al. 2017
LAS C ₁₀ -C ₁₃	Eaux usées	ACN/eau, 50/50	4	RP	C8	0,1 mM NH ₄ F	MeOH	MS/MS	[M] ⁻	DIN 32645	6,6	Gamme extraite		Freeling et al. 2019
C ₁₂₋₁₄ EO ₉ S	Eaux usées	ACN/eau, 50/50	40	RP	C18	25mM NH ₄ Ac, HAC pH 3,6	ACN	MS/MS	[M] ⁻	DIN 32645	0,1	Interne	SDS-d ₂₅	Freeling et al. 2019
LAS C ₁₀ -C ₁₄ C ₁₂₋₁₆ AS C ₁₂₋₁₆ EO ₁₋₄ S	Eaux usées traitées	MeOH/eau, 50/50	10	RP	C18	0,2 % AF, 10 mM NH ₄ Form	ACN	MS/MS	[M] ⁻	np	np	Interne		McDonough et al. 2016
C ₁₂₋₁₅ EO ₈ S	Sédiment	MeOH/eau, 50/50	np	RP	C8	0,3 mM NH ₄ Ac	ACN	MS	[M] ⁻	np	20	Interne ap. extraction	SDS-d ₂₅	Sanderson et al. 2006b
C ₁₂₋₁₈ AS	Boue	MeOH/eau, 50/50	10	RP	C18	10 mM NH ₄ Ac	ACN	MS	[M] ⁻	S/B	17	Gamme extraite		Abril et al. 2018
BAC-C ₁₂₋₁₈ DDAC-C ₁₀₋₁₈	Eau de surface Eaux usées	MeOH	10	RP	C18	10mM NH ₄ Ac, 1% HAC, ACN	0,1 % AF isopropanol	MS/MS	[M] ⁺	DIN 32645	0,03	Externe	BAC C ₁₂ -d ₅	Martinez-Carballo et al. 2007b
BAC-C ₁₂₋₁₆ DDAC-C ₁₀ ^a CetylPyridinium	Eaux usées	5% AF MeOH EtAc	10	RP/éch. Anton.	Acclaim Surfact. Plus	0,1 % AF	0,1 % AF ACN	MS/MS	[M] ⁺	S/B	30 5	Interne	BAC C ₁₄ -d ₇	Ostman et al. 2017
BAC-C ₈₋₁₈ DDAC-C ₈₋₁₈	Boue	MeOH	20	RP	C8	Eau/MeOH	0,1 % HAC, 10 mM NH ₄ Ac IPA	MS/MS	[M] ⁺	S/B	15 12	Interne ap. extraction		Ruan et al. 2014

Homologues recherchés	Matrice	Solvant injection	Vol. inj. (µL)	Type de sép.	Colonne	Tampon Phase aqueuse	Solvant Phase organique	Détection	Adduit	Calc. LQ	LQ (µg/L ou µg/kg)	Quanti	IS	Références
NP ₁₋₅ EO OP ₁₋₅ EO	Eau de surface	MeOH/eau, 50/50	10	RP/ CES	Alcool polyvinyliq.	10mM NH ₄ Ac	MeOH	MS/MS	[M+NH ₄] ⁺	S/B	0,05	Gamme extraite	¹³ C-NPEO	Loyo-Rosales et al. 2003
NP ₁₋₈ EO OP ₁₋₈ EO	Eaux usées	MeOH/eau, 20/80	2000 (SPE en ligne)	RP	Pentafluoro phényl	0,1 mM AF	ACN/THF 10/90	MS/MS	[M+NH ₄] ⁺	S/B	0,05	Gamme extraite	¹³ C-NPEO ¹³ C-OPEO	Ciofi et al. 2016
NP ₂₋₂₀ EO OP ₂₋₂₀ EO	Eau de surface	MeOH	25	RP	C18 hybride	2mM NH ₄ Ac	2mM NH ₄ Ac ACN	MS/MS	[M+NH ₄] ⁺	S/B	0,05	Externe		DeArmond & DiGregorio 2013
NP₃₋₁₂EO	Boue	ACN/eau 50/50	10	RP	C18	20 mM NH₄OH	20 mM NH₄OH ACN	MS/MS	[M+NH₄]⁺	S/B	10	Externe		Koh et al. 2008
Surfynol 104	Eau de surface	MeOH/ACN 50/50	1	GC	5 % phenyl	Helium		MS	m/z 109	DIN 32645	0,03	Interne après extraction	Squalane	Guedez et al. 2010
LAS C ₁₀ -C ₁₃ CDEA NP ₁₋₂ EO	Eau de surface Eaux usées	MeOH	15	RP	C18	Aucun	MeOH	MS	[M] ⁻ (LAS) [M+Na] ⁺ (CDEA) [M+Na] ⁺ (NPEO)	S/B	0,2 0,07 0,01	Externe		Gonzalez et al. 2004
LAS C ₁₀ -C ₁₃ BAC-C ₁₂₋₁₄	Eau de surface Eaux usées	DCM/MeOH 50/50	np	RP	C18	0,05 % AF, 5mM NH ₄ Ac	MeOH	MS/MS	[M] ⁻ (LAS) [M] ⁺ (BAC) [M+Na] ⁺ (NPEO)	Blank Conc. + 10*SD	LAS/BAC 0,1/0,002 0,4/0,003 11,4/0,1	Interne	¹³ C-LAS C ₁₂ BAC C ₁₄ - d ₅	Li et al. 2020
LAS C ₁₀ -C ₁₃ , C ₁₂₋₁₄ AS Cocamide MEA OP ₇₋₁₁ EO, SADP-DMA BAC-C ₁₂₋₁₄ , TEAQ-C16 Laurylpyridinium Cetylbétaïne	Eaux usées	ACN/eau 65/35	40	RP/ éch. Anion.	Acclaim Surfact. Plus	0,1 % AF, 5mM NH ₄ Ac	5mM NH ₄ Ac ACN	MS/MS	[M] ⁻ LAS, AS [M+NH ₄] ⁺ OP ₇₋₁₁ EO Cationiques [M] ⁺	S/B	8 5,5 0,1 0,1 0,2 0,4 0,2 5 0,1	Gamme extraite		Bergé et al. 2016

Abréviations utilisées :

np non précisé
LQ Limite de Quantification
IS Standard Interne
MeOH Méthanol
IPA Isopropanol
AF Acide formique
HAc Acide acétique
NH₄F Fluorure d'ammonium
S/B Phase inverse
RP ACN
ACN Acétonitrile
THF Tetrahydrofurane
NH₄Form Formiate d'ammonium
NH₄Ac Acétate d'ammonium

Les volumes d'injection se situent entre 4 et 40 μL . En théorie, augmenter le volume d'injection permet d'augmenter la sensibilité. Mais comme la quantité d'interférents de la matrice augmente également, le risque d'effet de matrice et de suppression de signal ne doit pas être négligé. De plus, le volume d'injection doit être adapté à la granulométrie de la colonne utilisée.

En ce qui concerne l'ionisation des composés avant leur entrée dans le MS, toutes les études du Tableau 14 rapportent l'utilisation d'une source ESI (Figure 28). Dans une étude récente publiée en 2019 (Laaniste et al. 2019), six sources d'ionisation de nouvelle génération sont comparées avec l'ESI pour l'analyse de 134 pesticides aux propriétés physico-chimiques différentes. Globalement, c'est toujours l'ESI qui conduit aux limites de détection les plus basses. Le choix des phases mobiles aqueuses (sels de solution tampon) et organiques (méthanol ou acétonitrile) est très important puisqu'il a un impact à la fois sur la séparation chromatographique et le rendement d'ionisation de la source ESI. Le rendement d'ionisation des composés dépend de la vitesse à laquelle les gouttelettes d'ESI se volatilisent et forment des gouttelettes plus petites à partir desquelles l'évaporation des ions peut se produire. Un pourcentage en solvant organique élevé augmente les rendements d'ionisation, car les gouttelettes ont tendance à se volatiliser plus rapidement. Si l'effet de la teneur en solvants organiques sur l'efficacité de l'ionisation est relativement simple, l'effet du type de tampon et du pH est toujours très difficile à comprendre (Kruve 2020). Par exemple, différents tampons ayant le même pH peuvent donner des rendements d'ionisation différents.

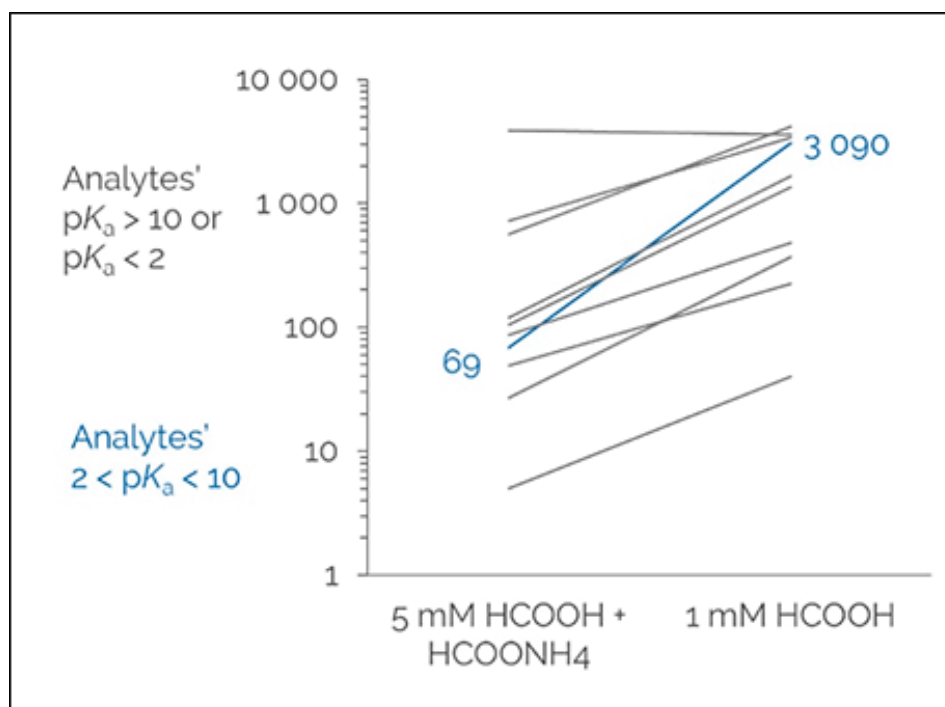


Figure 36: Rendement d'ionisation par ESI avec des solutions de même pH ($\text{pH} = 3$) et des sels tampons différents (adaptée de Kruve 2020)

Dans la Figure 36, les rendements d'ionisation obtenus avec des solutions d'acide formique et formiate d'ammonium sont comparés, le formiate d'ammonium induisant des rendements plus faibles.

Sur les 17 publications du Tableau 14, toutes les phases mobiles sont différentes. Comme solvants organiques, l'acétonitrile et le méthanol sont les plus utilisés, mais on peut noter l'usage d'un mélange acétonitrile/tetrahydrofurane pour l'analyse des APEO (Ciofi et al. 2016) et d'isopropanol pour les BAC et DDAC (Martinez-Carballo et al. 2007b, Ruan et al. 2014). Afin d'augmenter le rendement d'ionisation des molécules les plus retenues, un sel tampon et/ou un acide sont parfois ajoutés au solvant organique. Différents tampons ou acides sont présents dans la phase aqueuse. Les principaux sont les acides formique et acétique et les acétate et formiate d'ammonium. On note également l'usage d'hydroxyde d'ammonium pour les NPEO, et de triéthylamine et de fluorure d'ammonium pour les LAS. Le choix des tampons dépend surtout des propriétés physico-chimiques des molécules et du mode d'ionisation. Tous les tensioactifs anioniques (LAS, AS, AES) sont analysés en mode négatif sous la forme d'adduit $[M]^-$ et les cationiques (BAC, DDAC, TEAQ, alkylpyridinium) en mode positif sous la forme d'adduit $[M]^+$. Les APEO présentent une forte affinité pour les ions de métaux alcalins, ce qui entraîne la formation majoritaire d'adduits de sodium $[M+Na]^+$ plutôt que de molécules protonées dans les phases mobiles non tamponnées (Koh et al. 2008). Ceci est problématique en LC-MS/MS, car les adduits de sodium ont tendance à être plus stables que les autres adduits et à difficilement se fragmenter dans la cellule de collision. De plus, le sodium étant présent partout, il est difficile de maîtriser sa concentration. L'ajout de sels d'ammonium dans la phase mobile permet de favoriser la formation d'ions $[M+NH_4]^+$, qui peuvent être plus facilement fragmentés.

3.3- Quantification par LC-MS

L'ionisation dans les sources ESI est donc très dépendante des propriétés physico-chimiques des composés ciblés et les facteurs de réponse peuvent donc être très différents d'une molécule à l'autre. Des différences de réponse allant jusqu'à des facteurs de 100 millions ont déjà été reportées (Kruve 2020). Ainsi, à l'heure actuelle, la seule solution pour quantifier une molécule est de disposer de cette substance sous forme pure ou de solution étalon commerciale certifiée, afin de réaliser un étalonnage. C'est pourquoi la quantification de molécules, en particulier à

l'état de traces, dans les matrices environnementales n'est pas triviale et de nombreuses sources d'erreur existent, dont la liste ci-dessous n'est pas exhaustive :

- 1^{ère} source d'erreur : l'étalon de référence

La principale difficulté pour l'étalonnage est la disponibilité de l'étalon. En effet, si un grand nombre de substances chimiques est disponible commercialement soit à l'état pur (ou avec un pourcentage de pureté connu), soit en solutions de concentration connue, certaines ne sont pas accessibles. C'est le cas de certains tensioactifs qui ne sont disponibles que sous forme de solutions de mélanges d'homologues, notamment les OPEO (DeArmond & DiGoregorio 2013) et les AES (Freeling et al. 2019). Ces auteurs ont alors analysé ces solutions par LC-MS et déduit les concentrations individuelles en homologues à partir des aires de chacun, en faisant l'approximation que tous les homologues ont des facteurs de réponse identiques.

- 2^{ème} source d'erreur : les effets de matrice

Un autre facteur très important dans l'analyse de tout échantillon par LC-MS est l'effet de matrice. La plupart du temps, ceux-ci entraînent une suppression du signal et beaucoup plus rarement, une augmentation de l'ionisation peut être observée (Kruve 2020). Le mécanisme de la suppression est mieux compris que celui de l'augmentation. Pour être sous forme gazeuse, les composés doivent se déplacer vers la surface des gouttelettes d'ESI ; par conséquent, le mécanisme de suppression le plus évident est la compétition pour la charge de surface. Le composé ayant une plus grande affinité pour la charge de surface prend la place du composé ayant une affinité de surface plus faible. Des solutions ont été testées pour atténuer les effets de matrice (dilution de l'extrait, ajout d'une étape de purification, ajout de solvant organique post-colonne) mais il est très difficile de les éliminer complètement, notamment lors de l'analyse de matrices environnementales, qui sont extrêmement complexes (Cantarero et al. 2011). Dans ce cas, il n'est pas possible de quantifier par étalonnage externe et il faut se tourner vers d'autres types d'étalonnage.

La solution la plus privilégiée dans l'analyse des tensioactifs (Tableau 14) est l'étalonnage par standard interne (IS). Cependant, ce type d'étalonnage présente deux biais principaux. D'une part, comme l'effet de matrice dépend du temps de rétention, l'utilisation d'un IS ayant des propriétés d'ionisation similaires qui élue au même temps de rétention est nécessaire pour chaque analyte. Par conséquent, l'utilisation d'un nombre limité d'IS (généralement un par groupe de composés ou un par fenêtre temporelle) peut ne pas être suffisante pour corriger les résultats pour tous les analytes et certains souffriront encore d'une suppression ou d'une

amélioration importante du signal. C'est pourquoi chaque analyte nécessite son propre IS. Cependant, il existe deux obstacles principaux à cette approche (Petrovic 2014): (i) les IS (en particulier ceux marqués isotopiquement) sont coûteux et, pour de nombreux composés, ne sont pas disponibles dans le commerce et (ii) l'utilisation d'un IS pour chaque analyte peut diminuer la sensibilité de la méthode, car le nombre de m/z scannés par le MS augmente considérablement. De plus, Liang et al. 2003 ont montré que le composé ciblé et son IS co-élué peuvent être en compétition pour l'ionisation et induire une suppression mutuelle de signal. D'autre part, l'utilisation d'analogues deutérés peut être une source d'erreur en raison des échanges Hydrogène/Deutérium qui peuvent se produire à de faibles pH. Par ailleurs, il est important que la différence de masse entre le composé et les IS isotopiquement marqués soit d'au moins 3 uma, afin de pouvoir les séparer dans l'analyseur de masse et éviter les "interférences". Lorsque la différence est inférieure à 3 amu, les pics du massif isotopique de l'analyte peuvent interférer avec le signal de l'étalon interne. C'est pourquoi certains auteurs recommandent d'utiliser des composés marqués au ^{13}C , ^{15}N ou ^{17}O qui sont malheureusement encore moins disponibles que les deutérés, en particulier pour les tensioactifs.

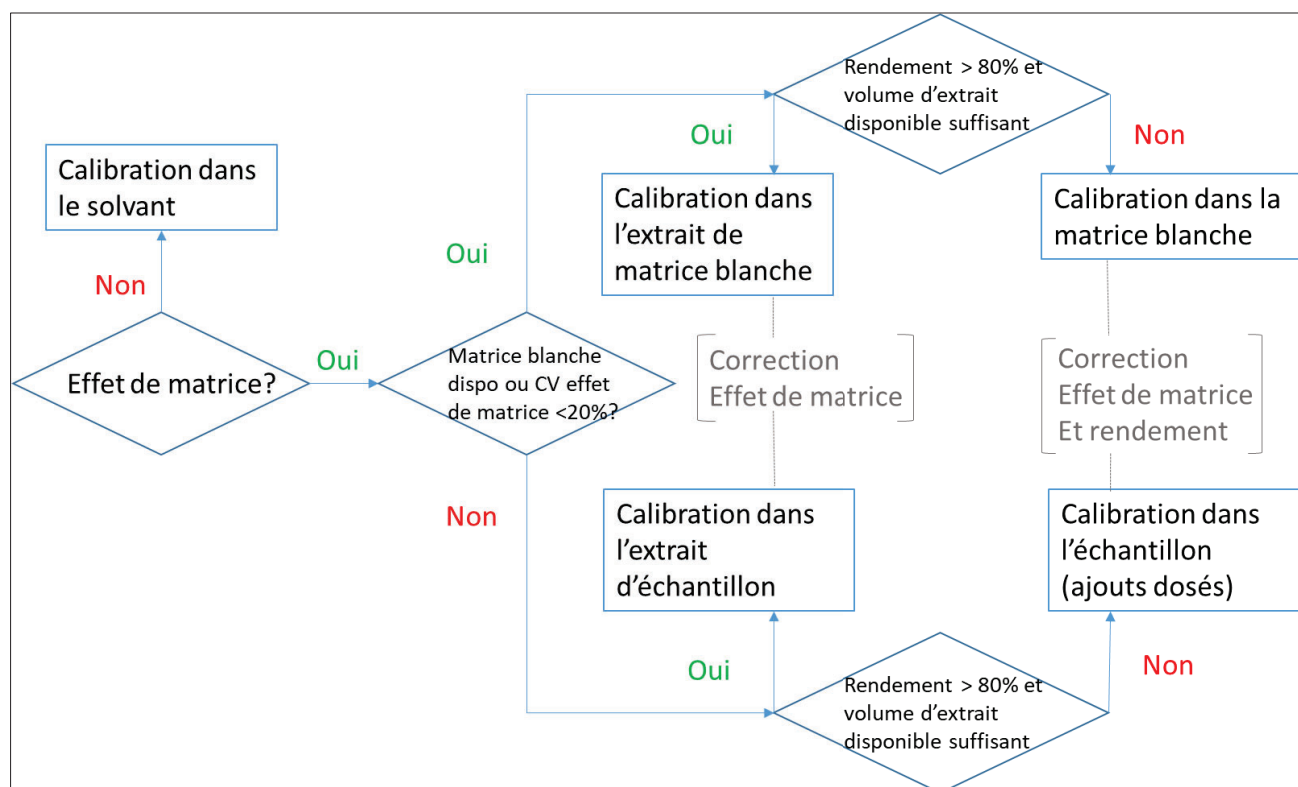


Figure 37: Schéma décisionnel de différents types d'étalonnage en matrice (adaptée de Diez et al. 2016)

Une autre solution est de réaliser une gamme d'étalonnage extraite, soit à partir d'une matrice blanche de référence, soit à partir de l'échantillon lui-même (appelé ajouts dosés) (colonne de droite de la Figure 37). La méthode d'étalonnage par ajouts dosés est celle qui assure la correction la plus juste des effets de matrice et rendement d'extraction, mais elle est très chronophage et nécessite une quantité d'échantillons élevée. Enfin, une dernière solution consiste à réaliser un étalonnage en dopant à différentes concentrations les extraits de matrice blanche ou de l'échantillon (colonne de gauche de la Figure 37). Celle-ci peut s'avérer plus rapide mais corrigera uniquement les effets de matrice.

- 3^{ème} source d'erreur : la détermination des performances analytiques de la méthode

Afin de pouvoir donner des résultats justes et précis, une méthode d'analyse doit être au préalable testée à l'aide de nombreuses expériences. Ceci permet de déterminer les limites de la méthode, en particulier les limites de quantification (LQ). La LQ est la plus petite concentration ou teneur de l'analyte pouvant être quantifiée, avec une incertitude acceptable, dans les conditions expérimentales décrites de la méthode. Les LQ des études du Tableau 14 s'échelonnent entre 0,002 et 33,4 µg/L pour les matrices liquides et entre 10 et 20 µg/kg pour les matrices solides. On peut voir que les méthodes de détermination des LQ diffèrent d'une publication à l'autre. La plupart se base seulement sur le critère du signal sur bruit (S/B), la LQ étant la concentration à laquelle le S/B est de 10. Le S/B permet d'évaluer la sensibilité d'une méthode mais pas de déterminer si celle-ci est précise. Les autres articles se basent sur la droite de régression (Martinez-Carballo et al. 2007b, Freeling et al. 2019) ou la déviation standard de l'aire du pic (Sakai et al. 2017, Li et al. 2020).

- 4^{ème} source d'erreur : la contamination par le processus analytique

Les tensioactifs sont largement utilisés et ils peuvent être présents dans l'air, l'eau, les solvants organiques ou les plastiques. Il est reconnu que l'un des problèmes majeurs de l'analyse des traces de micropolluants est la contamination à chaque étape de la procédure analytique (Figure 38), de l'échantillonnage à la préparation d'échantillon jusqu'à l'analyse chromatographique, qui conduit souvent à des résultats faussement positifs ou surestimés (Szczepanska et al. 2018). Il est parfois impossible d'éliminer complètement cette contamination et, dans ce cas, a minima, il est important de s'assurer qu'elle est stable.

D'après la littérature, les tensioactifs les plus problématiques seraient les alkylphénols et les LAS. Salgueiro-Gonzalez et al. 2012 ont rencontré des problèmes de contamination lors de

l'analyse des alkylphénols et du bisphénol A dans de l'eau potable. Ils ont réussi à diminuer cette contamination en utilisant un solvant de qualité LC-MS dans la phase mobile et des filtres de seringue en PTFE pour la filtration des extraits d'échantillons. Ils ont également pu observer des problèmes de contamination et d'adsorption lors de la filtration des échantillons.

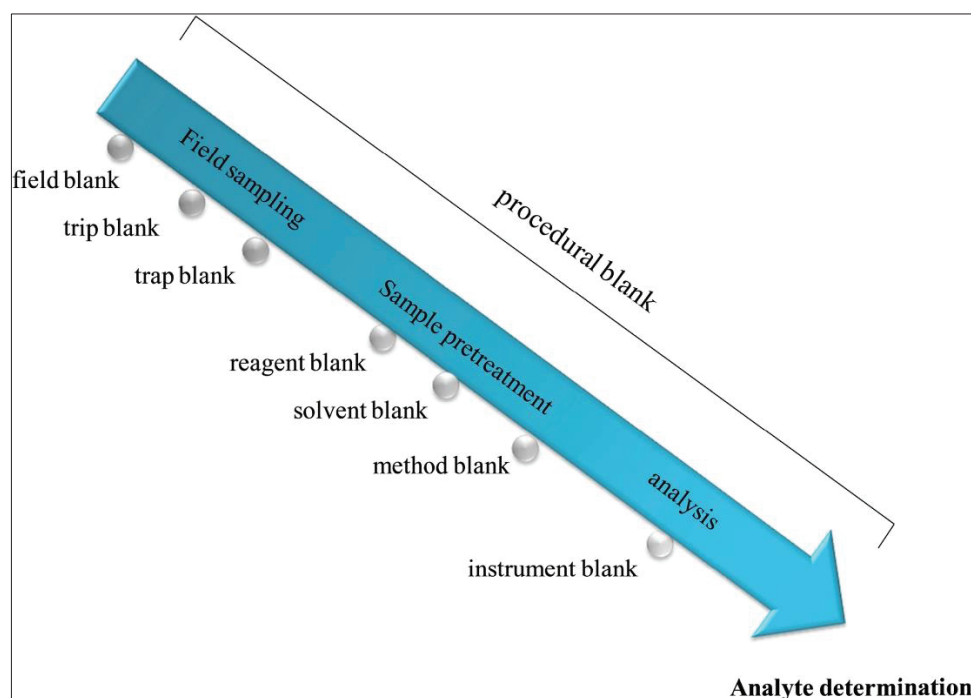


Figure 38: Les différents types de blancs du processus analytique (Szczepanska et al. 2018)

Comme dans plusieurs autres études, Li et al. 2020 ont remarqué un bruit de fond élevé en LAS dans les blancs instrumentaux et méthodes. Afin d'étudier cette contamination, ils ont trempé dans du méthanol des tubes à essai, des cartouches SPE, des filtres en téflon, des blouses de laboratoire et d'autres matériels de laboratoire, et analysé les extraits obtenus ainsi que différents solvants. De manière inattendue, des niveaux extrêmement élevés en LAS ont été trouvés dans les gants en nitrile. Des gants en caoutchouc ont donc été utilisés au cours de cette étude. Enfin, comme pour les effets de matrice, il est également possible de corriger le signal apporté par le processus analytique, soit par soustraction des blancs (Huber et al. 2016), soit par un étalonnage par gamme extraite.

Points clés de la partie 3

- Les étalons de certains tensioactifs sous forme de substance pure ne sont pas disponibles commercialement.
- En ce qui concerne la préparation des matrices liquides, la technique la plus utilisée est l'extraction sur phase solide (SPE).
- Pour les matrices solides, un apport d'énergie est nécessaire afin de casser les interactions entre la matrice et les composés ciblés, en particulier les tensioactifs cationiques. Les techniques les plus courantes sont l'extraction par liquide pressurisé (PLE) et l'extraction assistée par ultrasons (UAE).
- La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) semble être la technique la mieux adaptée à l'analyse de traces de tensioactifs dans les matrices environnementales, de par sa sensibilité et sa sélectivité. Cependant, la LC-MS est très sujette aux effets de matrice, qui peuvent être problématiques pour la quantification.
- Plusieurs publications rapportent des problèmes de contamination en tensioactifs dans le processus analytique, notamment pour les alkylphénols et les LAS.
- Très peu de méthodologies analytiques permettant la quantification simultanée de plusieurs familles de tensioactifs ont déjà été développées.

Chapitre II : Analyse par LC-MS/MS

Dans ce chapitre est présenté le développement de la méthode d'analyse de 27 substances tensioactives par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), du choix des étalons à l'évaluation des performances analytiques de la méthode LC-MS/MS développée, en passant par l'optimisation du signal par spectrométrie de masse.

La partie 1 présente les 27 molécules ciblées, leurs références (code SANDRE ou N°CAS), ainsi que les étalons commerciaux correspondant à ces substances, utilisés au cours de cette thèse.

Dans la partie 2, l'optimisation des principaux paramètres de la méthode LC-MS/MS sont présentés : mode d'ionisation, formation des adduits, processus et paramètres de fragmentation et température de source d'ionisation en ce qui concerne la spectrométrie de masse, et le type de rétention (hydrophobe ou ionique) en ce qui concerne la chromatographie liquide.

Enfin, la partie 3 présente les études préliminaires permettant d'assurer une quantification fiable des composés, à savoir la caractérisation des homologues et isomères présents dans les étalons commerciaux par LC-MS, l'évaluation des contaminations des blancs analytiques et un résumé des paramètres et performances atteintes de la méthode LC-MS/MS finalisée.

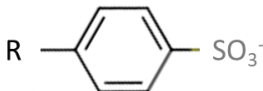
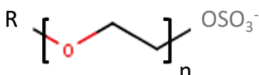
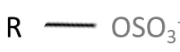
1- Molécules ciblées et standards analytiques

1.1- Tensioactifs ciblés et homologues

Les molécules ciblées dans cette étude comprennent à la fois des tensioactifs anioniques (9 substances), non-ioniques (7 substances) et cationiques (11 substances), soit un total de 27 molécules individuelles à analyser.

Le Tableau 15 présente les tensioactifs anioniques ciblés dans cette étude, ce qui représente un total de 9 substances, appartenant à trois familles de tensioactifs anioniques : les LAS, les AES et les AS.

Tableau 15: Tensioactifs anioniques ciblés

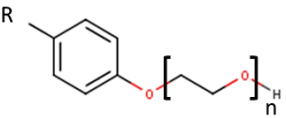
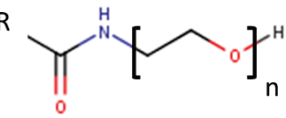
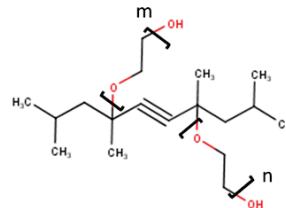
Nom	Formule générale	Homologues ciblés	Abréviation	SANDRE	
Alkylbenzène sulfonate linéaire LAS		R= C ₁₀ H ₂₁ R= C ₁₁ H ₂₃ R= C ₁₂ H ₂₅ R= C ₁₃ H ₂₇ R= C ₁₄ H ₂₉	LAS C10 LAS C11 LAS C12 LAS C13 LAS C14	8316 8317 8318 8319 8320	
Alkylethersulfate AES		R= C ₁₂ H ₂₅ n=1 n=2	Laureth sulfate 1-laureth sulfate 2-laureth sulfate	C ₁₂ EO ₁ S C ₁₂ EO ₂ S	8323 8324
Alkylsulfate AS		R= C ₁₂ H ₂₅ R= C ₈ H ₁₇	Lauryl sulfate Ethylhexyl sulfate	SDS EHS	5282 8327

Les LAS et AES, en particulier les laureth sulfates, font partie des substances produites et/ou importées en Europe à des tonnages supérieurs à 100 000 par an. Le lauryl sulfate, plus connu sous le nom de sodium dodecyl sulfate (SDS), est utilisé en tant que substance individuelle dans de nombreux produits cosmétiques mais est également présent dans les formulations de laureth sulfate. Il est à noter que l'on retrouve de nombreuses confusions dans les appellations et les n° CAS des tensioactifs anioniques (Wang et al. 2020). Ceci vient d'une part de la complexité de ces substances, qui comprennent de nombreux isomères et homologues. D'autre part, ces composés étant anioniques, ils sont synthétisés sous forme de sels, le plus souvent de sodium, mais c'est leur forme dissociée qui est analysée. Il existe peu de n°CAS pour les formes dissociées, uniquement pour le LAS C12 et la somme des LAS C10 à C13 (cf. Annexe 1). C'est

pourquoi, au préalable de la campagne « Emergents Nationaux 2018 » (EMNAT), des codes SANDRE ont été créés spécifiquement pour ces molécules par l'INERIS (codes SANDRE supérieurs à 8316 dans le Tableau 15).

Le Tableau 16 présente les tensioactifs non-ioniques ciblés dans cette étude, ce qui représente un total de 7 substances, appartenant à trois familles de tensioactifs : les APEO, les cocamide et les Surfynol.

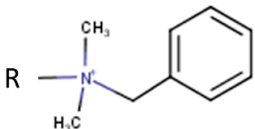
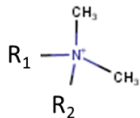
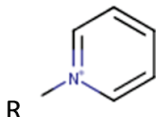
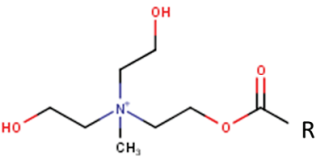
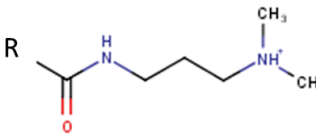
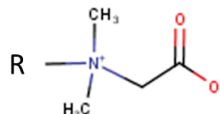
Tableau 16: Tensioactifs non-ioniques ciblés

Nom	Formule générale	Homologues ciblés	Abréviation	SANDRE
Alkylphénol polyéthoxylé APEO	 <p>Isomères ortho, méta, para R linéaire et/ou ramifié</p>	$R = C_8H_{17}$ Octylphénol $n=7$ $n=8$ $n=9$ $n=10$ $n=11$ Somme de $n=7$ à $n=11$ EO	OP ₇ EO OP ₈ EO OP ₉ EO OP ₁₀ EO OP ₁₁ EO OP ₇₋₁₁ EO	
Cocamide MEA		$R = C_{11}H_{23}$ Lauramide MEA $n=1$	CMEA	8325
Gemini Tetraméthyl-décyne polyéthoxylé		$n+m = 0$ Surfynol 104®	TMDD	6649

Le nombre de publications concernant les OPEO est assez conséquent mais la majorité concernent les mono et di-éthoxylés et leur produit de dégradation, l'octylphénol. A notre connaissance, il n'existe pas de n°CAS ou SANDRE pour les homologues des OPEO ciblés dans notre étude. Il en existe seulement pour le Triton X-100 (CAS : 9002-93-1 et SANDRE : 8322), nom commercial d'un mélange d'OPEO, centré sur $n=10$ éthoxy. En ce qui concerne les deux autres tensioactifs non-ioniques, très peu voire aucune données n'ont été publiées sur leur occurrence dans l'environnement (cf. Tableau 11).

Le Tableau 17 présente les tensioactifs cationiques et amphotérique ciblés dans cette étude, ce qui représente un total de 11 substances, appartenant à six familles de tensioactifs cationiques : les BAC, les DDAC, les alkylpyridinium, les TEAQ, les amidoamines et les alkylbétaines.

Tableau 17: Tensioactifs cationiques et amphotérique ciblés

Nom	Formule générale	Homologues ciblés	Abréviation	SANDRE
Alkylbenzyl dimethyl ammonium ou benzalkonium BAC		R= C ₁₂ H ₂₅ R= C ₁₄ H ₂₉ R= C ₁₆ H ₃₃ R= C ₁₈ H ₃₇	BAC-C ₁₂ BAC-C ₁₄ BAC-C ₁₆ BAC-C ₁₈	8297 8298 8299 8300
Dialkyldimethyl ammonium DDAC		R ₁ , R ₂ = C ₁₀ H ₂₁	DDAC-C ₁₀	6636
Alkylpyridinium		R= C ₁₂ H ₂₅ Laurylpyridinium	LaurPyr	8330
Triethanolamine Esterquat TEAQ	 Mono-, di- et tri-ester	R= C ₁₆ H ₃₃ R= C ₁₈ H ₃₇ (saturé) R= C ₁₈ H ₃₅ (insaturé)	TEAQ-C ₁₆ TEAQ-C ₁₈	8328 8329
Amidoamine		R= C ₁₇ H ₃₅ Stearamidopropyl Dimethylamine	SADP-DMA	8326
Alkyl bétaine		R= C ₁₆ H ₃₃ Cetyl bétaine	Cetylbetaine	8331

Les BAC et DDAC sont les tensioactifs cationiques qui ont été le plus recherchés dans les matrices environnementales, au contraire des quatre autres familles qui sont peu voire pas étudiées (cf. Tableau 11). Pourtant, les TEAQ sont des substances produites et/ou importées en Europe à des tonnages supérieurs à 100 000 par an, principalement utilisées en tant qu'adoucissants pour le linge. Contrairement aux LAS, bien qu'ils soient synthétisés sous forme de chlorures (voir Tableau 5), il existe des n°CAS pour les BAC et DDAC (cf. Annexe 1) sous forme dissociée. Comme pour les tensioactifs anioniques, les tensioactifs cationiques sont

analysés sous leur forme dissociée. Il existe également un n°CAS pour la somme des homologues des TEAQ en C₁₆ et C₁₈, saturé et insaturé (157905-74-3). Dans le cadre de notre étude, deux codes SANDRE, un pour le TEAQ-C₁₆ et un pour la somme des TEAQ-C₁₈ saturés et insaturés, ont été créés.

1.2- Standards commerciaux

Le Tableau 18 résume les fournisseurs et références des standards commerciaux des molécules ciblées et de substances marquées par un isotope, utilisés comme étalons analytiques, lors de notre étude.

Tableau 18: Fournisseurs et références des standards analytiques des molécules ciblées et étalons marqués par un isotope ; en gris, ceux contenant un mélange d'homologues

Substance ciblée	Fournisseur	Référence	CAS	Forme	Pureté (%)
LAS C10-C13	Fisher Scientific	AC325905000 ACROS Organics	85536-14-7	Poudre	96,6
LAS C14	SOBIODA	193-13151 / Wako	28348-61-0	Méthanol 1 mg/mL	95
C ₁₂ EO ₀₋₂ S	BOC Science	BCH8921-1	9004-82-4	Liquide	70
SDS	SIGMA-ALDRICH	436143-25G	151-21-3	Poudre	99
EHS	SIGMA-ALDRICH	71220	126-92-1	Eau (50%)	50
OP ₇₋₁₁ EO	MERCK	108603 (Triton X-100) Millipore	9036-19-5	Liquide	85
CMEA	Care Chemicals	Comperlan 100	68140-00-1	Liquide	56
TMDD	SIGMA-ALDRICH	278386-100G	126-86-3	Poudre	98
BAC-C ₁₂ et C ₁₄	SIGMA-ALDRICH	12060-60G	63449-41-2	Poudre	96
BAC-C ₁₆	SIGMA-ALDRICH	B4136-25G	122-18-9	Poudre	97
BAC-C ₁₈	TCI	B1297	122-19-0	Poudre	98
DDAC-C ₁₀	SIGMA-ALDRICH	34466-250MG	7173-51-5	Poudre	89
TEAQ-C ₁₆ et C ₁₈	BASF	Basocorr E 1005	157905-74-3	Pâte	85
LaurPyr	SIGMA-ALDRICH	278602-5G	104-74-5	Poudre	98
SADP-DMA	CRODA	Incromine SD	7651-02-7	Liquide	95
Cetylbétaïne	SIGMA-ALDRICH	CDS003288-500MG	693-33-4	Poudre	90
Benzyl-d ₅ -dimethyl n-decylammonium Chloride (BDDA-d ₅)	CDN Isotopes	D-7765	N/A	Poudre	99
Sodium n-Dodecyl-d ₂₅ Sulfate (SDS-d ₂₅)	CDN Isotopes	D-2552	110863-24-6	Poudre	98
nHexadecylpyridinium- d ₅ Bromide (HexPyr- d ₅)	CDN Isotopes	D-6446	143715-91-7	Poudre	98

Cinq de ces standards (en gris dans le Tableau 18) sont constitués d'un mélange d'homologues. Parmi eux, le standard de BAC-C₁₂ et C₁₄ a été caractérisé par le fournisseur comme contenant 64,9% et 31,2% de BAC-C₁₂ et C₁₄ respectivement. Les compositions des quatre autres standards analytiques (LAS C10-C13, laureth sulfate, OPEO et TEAQ) ne sont pas connues a priori.

Les fournisseurs des réactifs utilisés dans la méthode LC-MS/MS sont les suivants: acide formique et acétate d'ammonium (Biosolve-chemicals, Dieuze, France), eau grade LC-MS (Fisher Chemical, Geel, Belgium), méthanol et acétonitrile (Honeywell, Seelze, Germany).

2- Optimisation de la détection par LC-MS/MS

2.1- Modes d'ionisation et transitions MRM

Le spectromètre de masse utilisé est un spectromètre de masse triple quadripôle (3200 QTrap™, Sciex®), qui comprend une source électrospray et trois analyseurs quadripolaires (Figure 39).

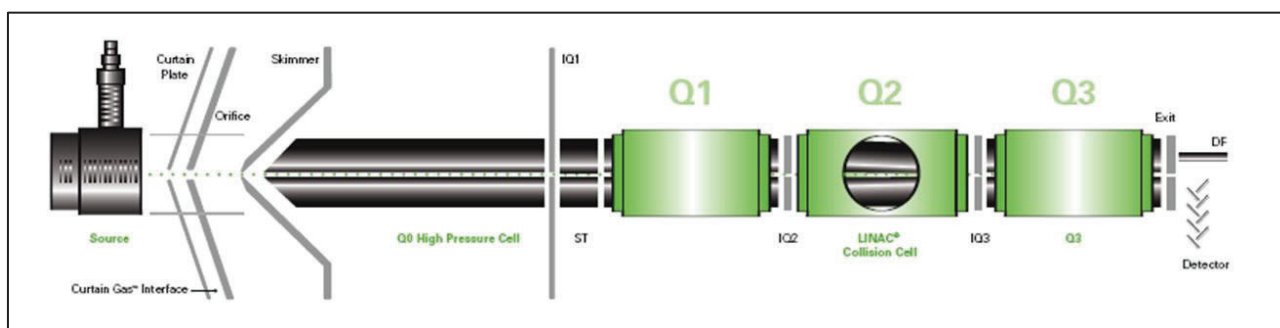


Figure 39: Schéma de principe du spectromètre de masse triple quadripôle (3200 QTrap™, Sciex®)

La 1^{ère} étape d'optimisation consiste à déterminer dans quel mode d'ionisation, positif ou négatif, le facteur de réponse de chaque molécule est le plus élevé et quel adduit est majoritaire. Pour cela, des solutions à 10 mg/L dans un mélange eau/méthanol avec 10 mM de NH₄Ac pour le mode négatif et 10 mM de NH₄Ac et 0,1% d'AF pour le mode positif, de chaque composé sont préparées. Elles sont infusées, une par une, à 10 µL/min dans le spectromètre de masse en mode « full scan », sur une plage de m/z couvrant la masse molaire de la molécule. Avec ce mode, le spectromètre balaye toutes les masses ionisées et les détecte par m/z à l'aide du 1^{er}

quadripôle. Le Tableau 19 résume les formules brutes, masses mono-isotopiques, adduits majoritaires et leur modes d'ionisation et masse sur charge, pour chaque substance.

Tableau 19 : Formule brute, masse mono-isotopique, mode d'ionisation, adduit majoritaire et sa masse sur charge (m/z)

Nom	Formule brute	Masse mono-isotopique (g/mol)	Mode d'ionisation	Adduit majoritaire	m/z (uma)
Anionique					
LAS C10	C ₁₆ H ₂₅ O ₃ S	297,15	Négatif	[M] ⁻	297
LAS C11	C ₁₇ H ₂₇ O ₃ S	311,17	Négatif	[M] ⁻	311
LAS C12	C ₁₈ H ₂₉ O ₃ S	325,18	Négatif	[M] ⁻	325
LAS C13	C ₁₉ H ₃₁ O ₃ S	339,20	Négatif	[M] ⁻	339
LAS C14	C ₂₀ H ₃₃ O ₃ S	353,21	Négatif	[M] ⁻	353
C ₁₂ EO ₁ S	C ₁₄ H ₂₉ O ₅ S	309,17	Négatif	[M] ⁻	309
C ₁₂ EO ₂ S	C ₁₆ H ₃₃ O ₆ S	353,20	Négatif	[M] ⁻	353
SDS	C ₁₂ H ₂₅ O ₄ S	265,15	Négatif	[M] ⁻	265
EHS	C ₈ H ₁₇ O ₄ S	209,08	Négatif	[M] ⁻	209
Non-ionique					
OP ₇ EO	C ₂₈ H ₅₀ O ₈	514,35	Positif	[M+NH ₄] ⁺	532
OP ₈ EO	C ₃₀ H ₅₄ O ₉	558,38	Positif	[M+NH ₄] ⁺	576
OP ₉ EO	C ₃₂ H ₅₈ O ₁₀	602,40	Positif	[M+NH ₄] ⁺	620
OP ₁₀ EO	C ₃₄ H ₆₂ O ₁₁	646,43	Positif	[M+NH ₄] ⁺	664
OP ₁₁ EO	C ₃₆ H ₆₆ O ₁₂	690,45	Positif	[M+NH ₄] ⁺	708
CMEA	C ₁₄ H ₂₉ NO ₂	243,22	Positif	[M+H] ⁺	244
TMDD	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	226,19	Positif	[M+NH ₄] ⁺	244
Cationique					
BAC-C ₁₂	C ₂₁ H ₃₈ N	304,30	Positif	[M] ⁺	304
BAC-C ₁₄	C ₂₃ H ₄₂ N	332,33	Positif	[M] ⁺	332
BAC-C ₁₆	C ₂₅ H ₄₆ N	360,36	Positif	[M] ⁺	360
BAC-C ₁₈	C ₂₇ H ₅₀ N	388,39	Positif	[M] ⁺	388
DDAC-C ₁₀	C ₂₂ H ₄₈ N	326,38	Positif	[M] ⁺	326
LaurPyr	C ₁₇ H ₃₀ N	248,24	Positif	[M] ⁺	248
TEAQ-C ₁₆	C ₂₃ H ₄₈ NO ₄	402,36	Positif	[M] ⁺	402
TEAQ-C ₁₈ insat.	C ₂₅ H ₅₀ NO ₄	428,37	Positif	[M] ⁺	428
TEAQ-C ₁₈ sat.	C ₂₅ H ₅₂ NO ₄	430,39	Positif	[M] ⁺	430
SADP-DMA	C ₂₃ H ₄₈ N ₂ O	368,38	Positif	[M+H] ⁺	369
Cetylbétaïne	C ₂₀ H ₄₁ NO ₂	327,31	Positif	[M+H] ⁺	328

Tous les tensioactifs anioniques ciblés dans cette étude ont pour adduit majoritaire [M]⁻ et non pas, [M-H]⁻. En effet, ils comprennent des groupements sulfonates et sulfates, ce qui leur confère une charge négative, sans déprotonation. La majorité des adduits majoritaires des

tensioactifs non-ioniques sont des adduits ammonium, ce qui est conforme à la littérature (Tableau 14). En ce qui concerne les tensioactifs cationiques, ils forment tous des adduits $[M]^+$, ce qui s'explique par la présence de groupements ammonium quaternaires, qui sont chargés positivement. La cetylbétaïne, zwitterionique, forme l'adduit $[M+H]^+$, lié à la présence d'un groupement carboxylate qui se protone facilement. En conclusion, les tensioactifs anioniques (9 substances) seront détectés en mode d'ionisation négative et les tensioactifs non-ioniques et cationiques (18 substances) en mode d'ionisation positive.

La 2^{de} étape d'optimisation consiste à déterminer les m/z d'au minimum 2 fragments (appelés aussi ions produits) les plus intenses et caractéristiques, pour chaque molécule. Afin d'être le plus sélectif possible, il est recommandé d'éviter de sélectionner les fragments communs à un grand nombre de molécules comme ceux correspondant à une perte d' H_2O , ou ceux de m/z inférieures à 100. En effet, en général, moins les fragments sélectionnés sont caractéristiques et plus le bruit de fond est élevé, conduisant à un S/B plus faible et donc à des limites de détection plus élevées. Pour cela, les mêmes solutions que précédemment sont infusées dans le spectromètre de masse en mode « product ion » (Figure 40), sur une plage de m/z de 50 à la masse mono-isotopique de la molécule. Avec ce mode, le spectromètre sélectionne l'adduit majoritaire (appelé également ion parent) dans le 1^{er} quadripôle, le fragmente dans le 2nd et détecte tous les ions produits à l'aide du 3^{ème} quadripôle.

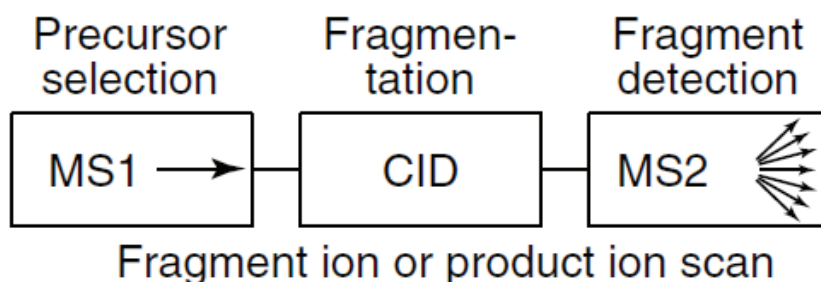


Figure 40: Principe du mode d'acquisition "product ion" sur un spectromètre de masse triple quadripôle (Hoffmann & Stroobant 2007)

Les spectres de fragmentation obtenus pour chaque molécule sont reportés en Annexe 2. Même si les mécanismes de fragmentation par CID restent moins connus que par impact électronique, différentes règles existent qui sont par exemple intégrées à la plateforme en ligne <http://cfmid.wishartlab.com/> (Steckel & Schlosser 2019), qui a permis d'interpréter les spectres obtenus dans notre étude.

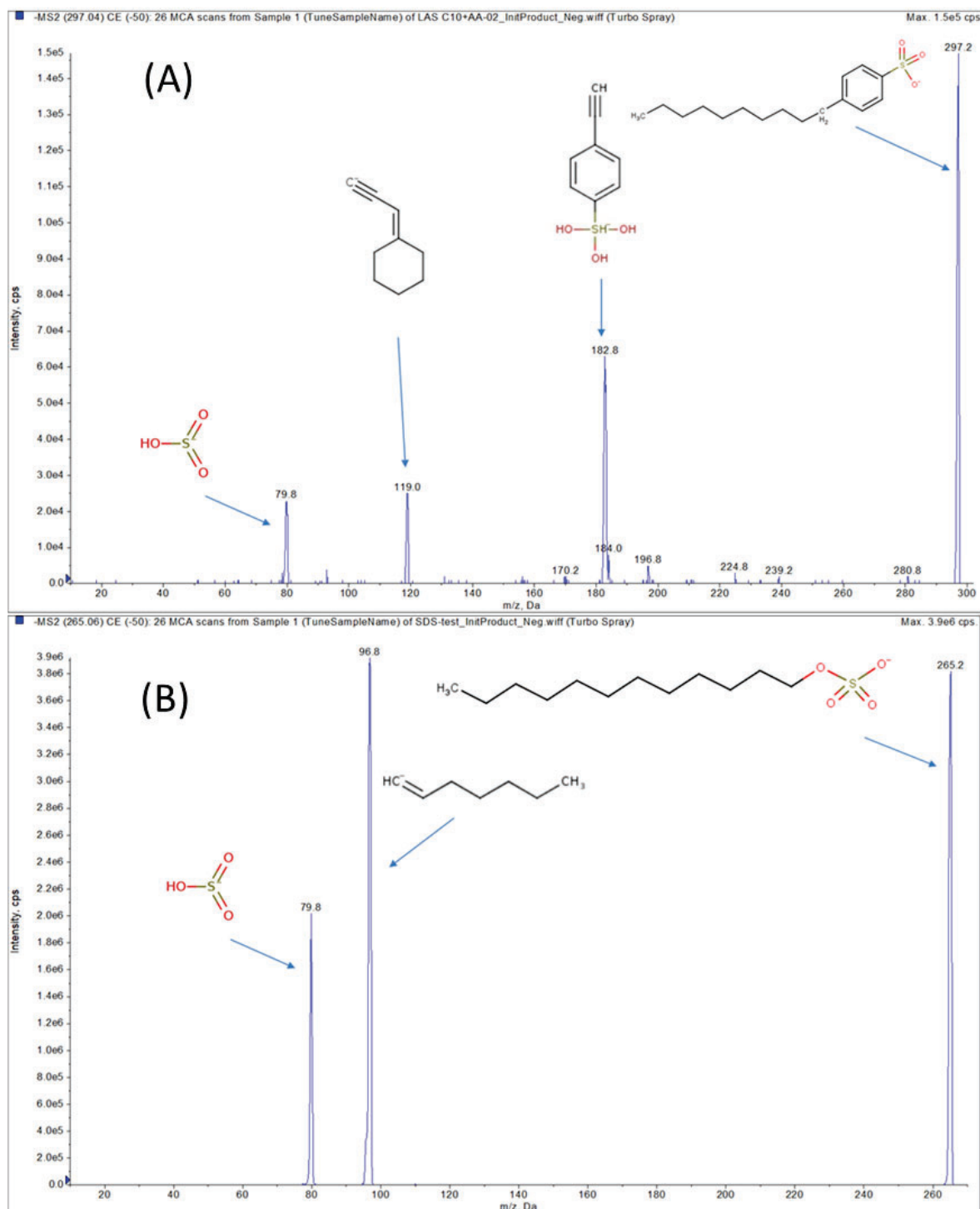


Figure 41: Schémas de fragmentation et formules chimiques possibles (A) LAS-C10, (B) SDS

Que se soient des sulfates ou sulfonates, tous les tensioactifs anioniques ont en commun le fragment de m/z 80, qui correspond à l'ion hydrogénosulfite HSO_3^- . Hormis ce fragment commun, les schémas de fragmentation des LAS d'une part, et des AS, AES, d'autre part sont bien distincts (Figure 41).

Les schémas de fragmentation des 4 homologues des LAS sont les mêmes, avec la formation de 3 fragments majoritaires de m/z 80, 119 et 183, ce qui signifie que la chaîne alkyle n'est pas présente dans les fragments. Le fragment 119 correspond au fragment 183 qui a perdu l'ion hydrogénosulfite. Les AS et AES présentent seulement 2 fragments majoritaires de m/z 80 et 97.

Les spectres de fragmentation des OPEO sont très complexes, avec de nombreux fragments (Figure 42). Pour chaque homologue, on observe le fragment qui correspond à la perte de l'ion ammonium et celui qui correspond à celle de la chaîne alkyle. Les fragments de masses plus faibles sont identiques aux 5 homologues, avec 3 voies de fragmentation qui correspondent à des pertes de groupements éthoxy (m/z 44). L'une part du fragment 321, qui comprend la chaîne alkyle en C_8 et 2 groupements éthoxy. Une autre part du fragment 265 et conduit à la formation des fragments majoritaires 89 et 133. Enfin, la dernière part du fragment 253 et correspond à la formation des fragments 165 et 121. Ces observations sont cohérentes avec une étude qui concerne les NPEO (Plomley et al. 1999), qui rapporte la formation des fragments 121 et 165, d'une part et 133 d'autre part. Le TMDD présente également un spectre de fragmentation complexe (Figure 42). Le fragment 226 correspond à la perte de l'ion ammonium et les fragments 209 et 191, à la perte des groupements hydroxy. On observe également le fragment de m/z 109, qui est utilisé comme ion caractéristique en GC-MS (Guedez et al. 2010).

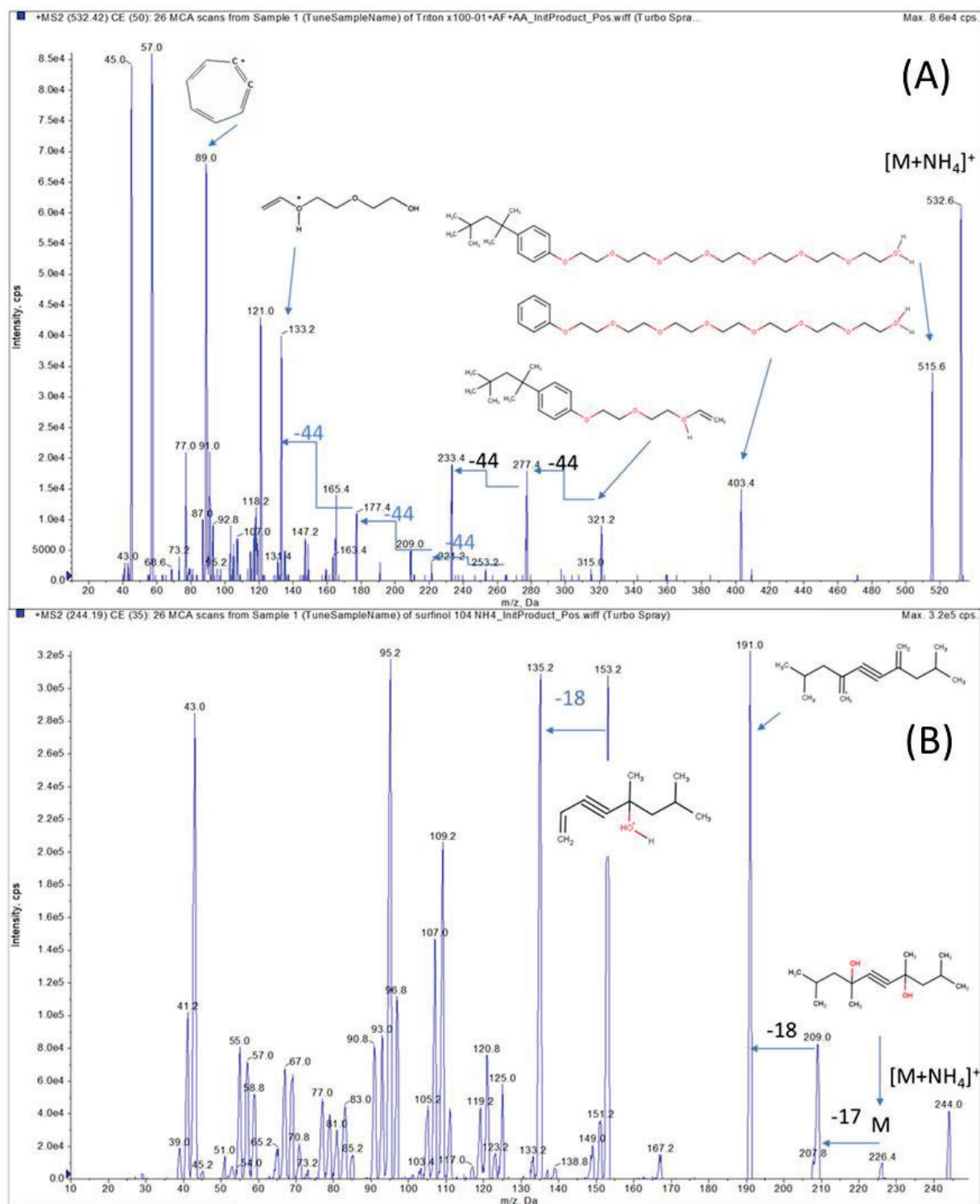


Figure 42: Schémas de fragmentation et formules chimiques possibles (A) OP₇-EO, (B) TMDD

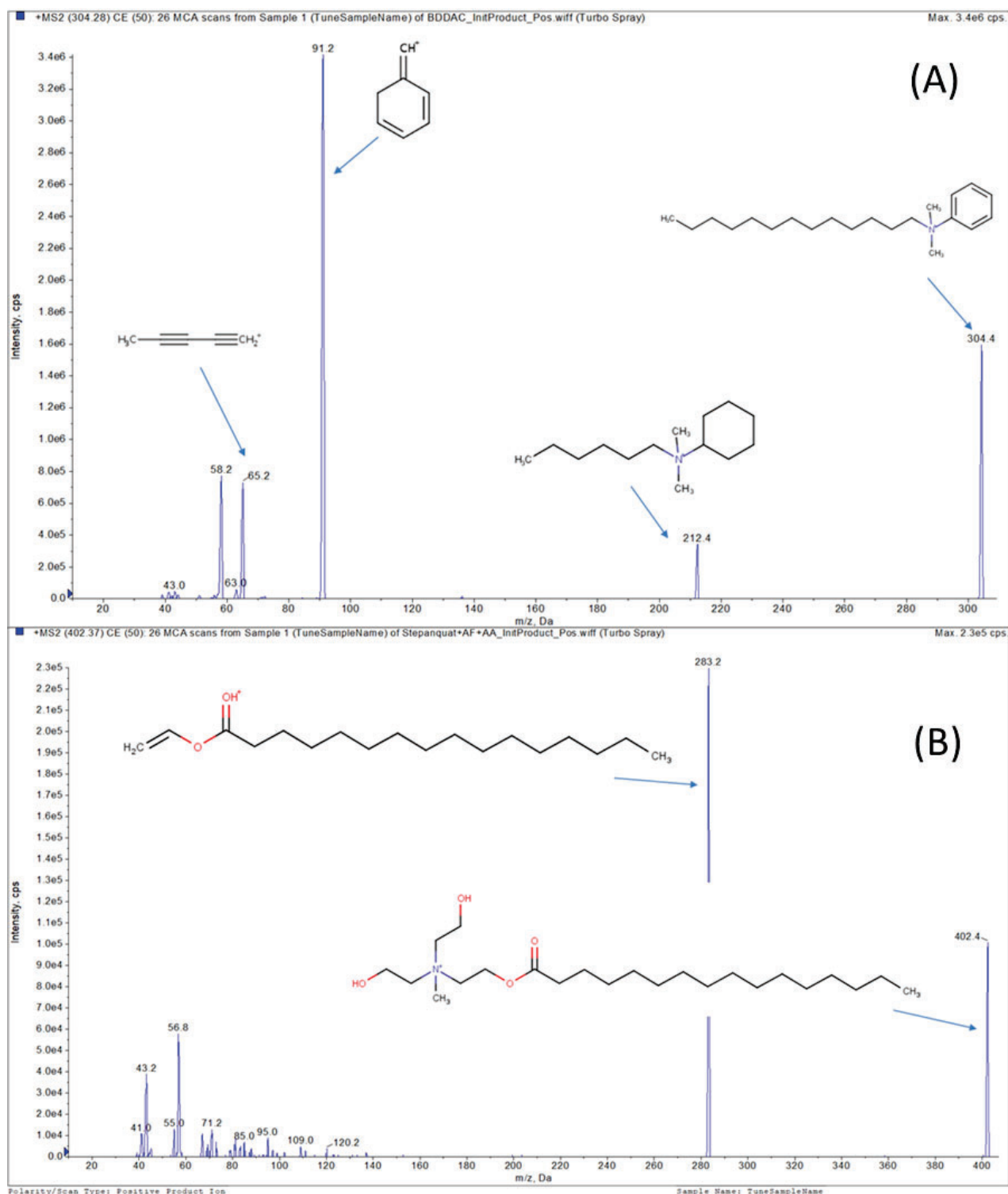


Figure 43: Spectres de fragmentation et formules possibles (A) BAC-C₁₂, (B) TEAQ-C₁₆

A l'inverse, CMEA, SADP-DMA et les tensioactifs cationiques forment peu de fragments à la fois caractéristiques et intenses (Figure 43 et Annexe 2).

Les 4 homologues des BAC ont 4 fragments majoritaires, dont 3 en commun, de m/z 58, 65 et 91. Les fragments 212, 240, 268 et 296 sont formés respectivement par les BAC- C_{12} , C_{14} , C_{16} et C_{18} . Dans le cas du DDAC- C_{10} , le fragment 186 correspond à la perte d'une des deux chaînes alkyles. Enfin, les TEAQ présentent un unique fragment caractéristique de m/z 283, 309 et 311, respectivement pour TEAQ- C_{16} , C_{18} insaturé et C_{18} saturé. Les autres fragments, de m/z 43 et 57 ou 58, sont pratiquement communs à toutes les molécules.

Tableau 20: Masses sur charge des ions parents et ions produits sélectionnés, Declustering Potential (DP) et Energie de Collision (CE) optimisées

Nom	Ion parent (m/z)	DP (V)	Ion produit 1 (m/z)	CE (V)	Ion produit 2 (m/z)	CE (V)
ESI négative						
LAS C_{10}	297	-75	119	-62	183	-38
LAS C_{11}	311	-80	183	-48	119	-68
LAS C_{12}	325	-85	183	-48	119	-70
LAS C_{13}	339	-95	183	-50	119	-72
LAS C_{14}	353	-70	183	-50	119	-76
$C_{12}EO_1S$	309	-60	97	-44	80	-78
$C_{12}EO_2S$	353	-65	97	-48	80	-88
SDS	265	-65	97	-36	80	-82
EHS	209	-55	97	-32	80	-60
ESI positive						
OP ₇ EO	532	46	89	41	133	33
OP ₈ EO	576	51	89	47	133	33
OP ₉ EO	620	61	89	51	133	37
OP ₁₀ EO	664	61	89	51	133	37
OP ₁₁ EO	708	66	89	51	133	41
CMEA	244	31	62	35	57	35
TMDD	244	11	191	11	153	11
BAC- C_{12}	304	51	91	45	212	27
BAC- C_{14}	332	46	91	49	240	29
BAC- C_{16}	360	86	268	31	91	59
BAC- C_{18}	388	56	91	53	58	65
DDAC- C_{10}	326	20	186	186	57	55
LaurPyr	248	66	80	33	57	37
TEAQ- C_{16}	402	56	283	31	57	65
TEAQ- C_{18} insat.	428	36	309	29	55	65
TEAQ- C_{18} sat.	430	46	311	35	57	73
SADP-DMA	369	46	324	31	57	57
Cetylbétaïne	328	66	104	31	85	35

Le Tableau 20 résume pour chaque substance les ions parents et ions fils sélectionnés pour la suite de l'étude, ainsi que les voltages optimisés (Declustering Potential (DP) et Energie de Collision (CE)). Pour chaque ion parent, des DP entre 1 et 400 V, avec des pas de 5 V ont été testés, et pour chaque ion produit, des CE de 5 à 130 eV, avec des pas de 2 eV. Le DP est la différence de potentiel entre l'orifice et la terre. Un DP trop faible entraîne une intensité des ions plus basse. Une valeur trop élevée peut entraîner une fragmentation en source. L'énergie de collision optimum est elle aussi différente pour chaque fragment. Les fragments de m/z les plus petits nécessiteront des énergies de collision plus élevées. On peut observer de nombreux fragments communs entre les tensioactifs, et notamment entre les différents homologues : m/z 119 et 183 pour les LAS, m/z 80 et 97 pour les AS et AES, m/z 89 et 133 pour les OPEO, m/z 91 pour les BAC, et m/z 57 pour CMEA, SADP-DMA, DDAC et TEAQ. D'où l'importance de séparer chromatographiquement ces composés afin d'éviter de potentiels cross-talks. Un cross-talk est la capacité d'un ion d'une transition à être détecté au début du temps de séjour de la transition suivante. Ce phénomène peut produire des interférences entre les détections des composés ayant les mêmes fragments et qui ont des temps de rétention proches (Song 2011).

2.2- Conditions chromatographiques

Le système de chromatographie liquide utilisé est un système de chromatographie liquide à ultra haute performance (UHPLC) (1290 InfinityTM, Agilent®), qui supporte des contre-pressions allant jusqu'à 1200 bars.

L'objectif de cette étape est de trouver les conditions chromatographiques optimales qui permettent de détecter tous les composés ciblés en un minimum d'injections. Les propriétés physico-chimiques des molécules imposant déjà deux injections, une en ESI positive et une en ESI négative, le but est d'optimiser deux méthodes chromatographiques, une pour les composés chargés positivement, et une pour les composés chargés négativement.

Les tensioactifs possédant à la fois des fonctions hydrophobes et ioniques, ils peuvent à la fois créer des interactions hydrophobes ou ioniques avec les phases stationnaires de chromatographie liquide. Parmi toutes les phases stationnaires retrouvées dans la littérature (cf. Tableau 14), notre choix s'est porté sur deux types de phases : silice greffée C18, qui est la phase majoritairement utilisée, et une phase qui allie interactions hydrophobes et échanges anioniques (RP/éch.anion.), spécialement conçue pour l'analyse des détergents par

chromatographie liquide. Avec cette dernière colonne, une méthode d'analyse de détergents par chromatographie liquide avait déjà été optimisée au sein de notre laboratoire (Bergé et al. 2016). Nous avons donc choisi de conserver les paramètres optimisés de cette méthode et de les comparer avec une nouvelle méthode basée sur une colonne C18.

Concernant la méthode basée sur les interactions RP/éch. anion. (Bergé et al. 2016), les paramètres étaient les suivants :

- Colonne : Acclaim Surfactant Plus (Thermo Scientific™) (3,0 μm (150 x 3) mm)
- Phase mobile :
 - A (Eau LC-MS à 5mM d'acétate d'ammonium et 0,1% d'acide formique)
 - B (Acétonitrile à 5mM d'acétate d'ammonium)
- Débit : 900 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$
- Température de colonne : 30°C
- Solvant d'injection : acétonitrile/eau / NH_4OH 30/65/5 (solution à 25% en NH_4OH)
- Volume d'injection : 40 μL
- Gradient en ESI Positive

Temps (min)	A (%)	B(%)
5 (Equil.)	70	30
1	70	30
10	15	85
15	15	85

- Gradient en ESI Négative

Temps (min)	A (%)	B(%)
5 (Equil.)	70	30
1	70	30
3	15	85
12	15	85

En ce qui concerne la méthode basée sur une colonne C18, disposant d'un système UHPLC, la granulométrie de la colonne choisie est bien inférieure à celle de RP/éch. anion de manière à obtenir des pics plus fins, et ainsi augmenter le S/B. Des premiers essais ayant montré un facteur de réponse plus élevé de certains tensioactifs avec le méthanol par rapport à l'acétonitrile, le méthanol a été sélectionné comme phase organique. Les autres paramètres de cette méthode sont les suivants :

- Colonne : Poroshell 120 (Agilent©) C18 1,9 μm (50 mm x 2,1 mm)
- Débit : 500 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$

- Température de colonne : 40°C
- Solvant d'injection : acétonitrile/eau /NH₄OH 30/65/5 (solution à 25% en NH₄OH)
- Volume d'injection : 40 µL
- Phase mobile et gradient en ESI Positive :
 - A (Eau LC-MS à 0,1% d'acide formique)
 - B (Méthanol)

Temps (min)	A (%)	B(%)
3 (Equil.)	50	50
0	50	50
5	0	100
7	0	100

- Phase mobile et gradient en ESI Négative :
 - A (Eau LC-MS à 1mM d'acétate d'ammonium)
 - B (Méthanol)

Temps (min)	A (%)	B(%)
3 (Equil.)	60	40
0	60	40
4	0	100
6	0	100

Les molécules analysées par la méthode RP/éch. anion. étaient similaires à celles de notre étude, mis à part 8 substances qui n'étaient pas incluses : TMDD, BAC-C₁₆, BAC-C₁₈, DDAC-C₁₀, TEAQ-C₁₈ insat et TEAQ-C₁₈ sat, en ESI positive et LAS C₁₄ et C₁₂EO₂S, en ESI négative.

Les Figure 44 et Figure 45 permettent de comparer les chromatogrammes obtenus avec les deux méthodes, respectivement en ESI Positive et Négative. Globalement, on observe une différence très nette d'asymétrie et de largeur de pics entre les deux méthodes. En effet, les pics sont plus fins et gaussiens avec la méthode C18. Plusieurs paramètres peuvent expliquer cette observation qui sont principalement liés à la dimension et à la phase stationnaire de la colonne. En effet, d'une part, la colonne C18 a un diamètre interne plus faible, 2,1 mm contre 3 mm pour la colonne RP/éch. anion. Les colonnes de plus faibles diamètres offrent de meilleures performances à des débits faibles que les colonnes de diamètres élevés. Ceci permet à la fois de diminuer la consommation de solvant et également de gagner en sensibilité en ESI, le rendement des sources ESI étant bien supérieur avec des débits plus faibles (Roser 2018).

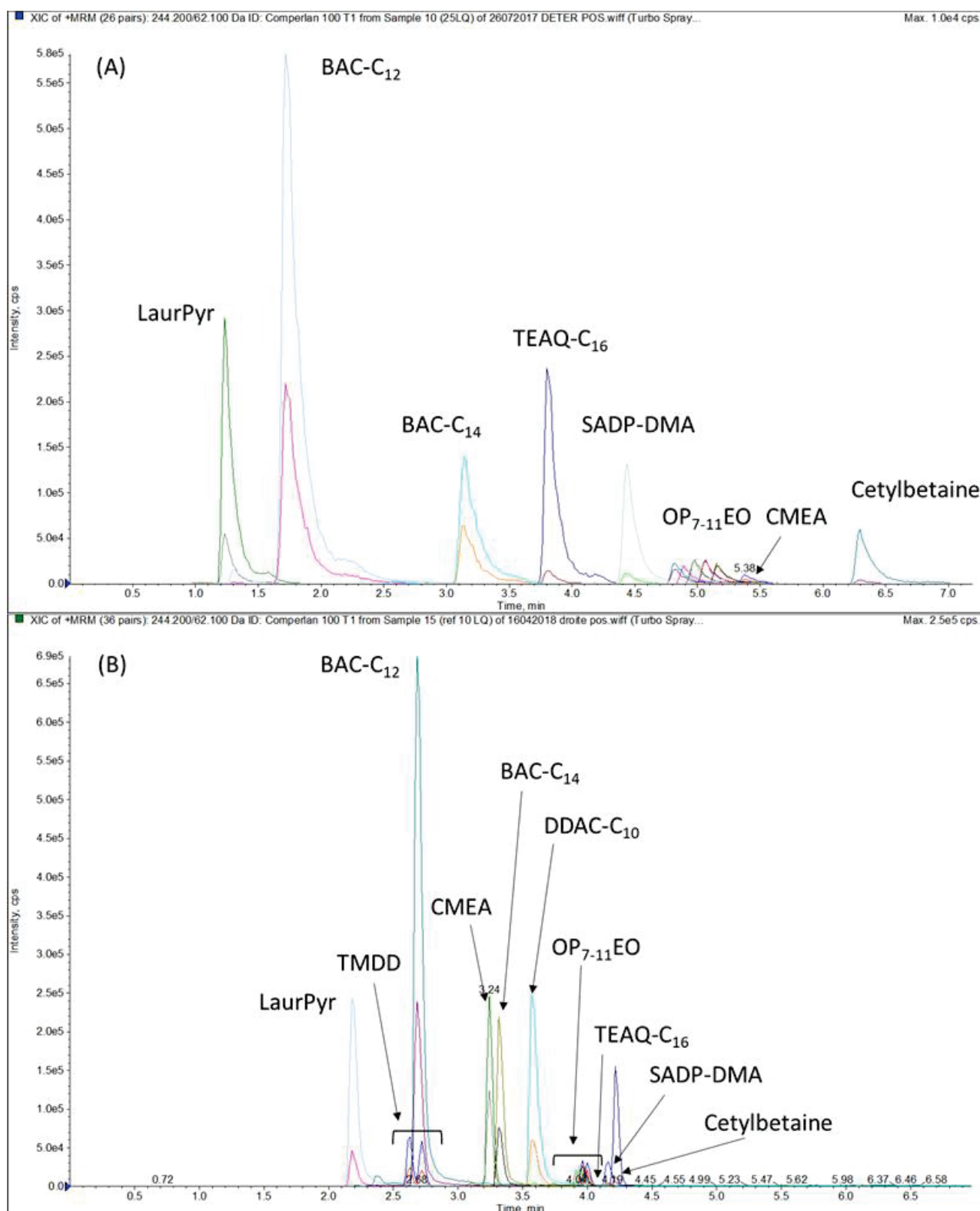


Figure 44: Chromatogrammes des tensioactifs en ESI positive des méthodes (A) RP/éch. Anion et (B) C18

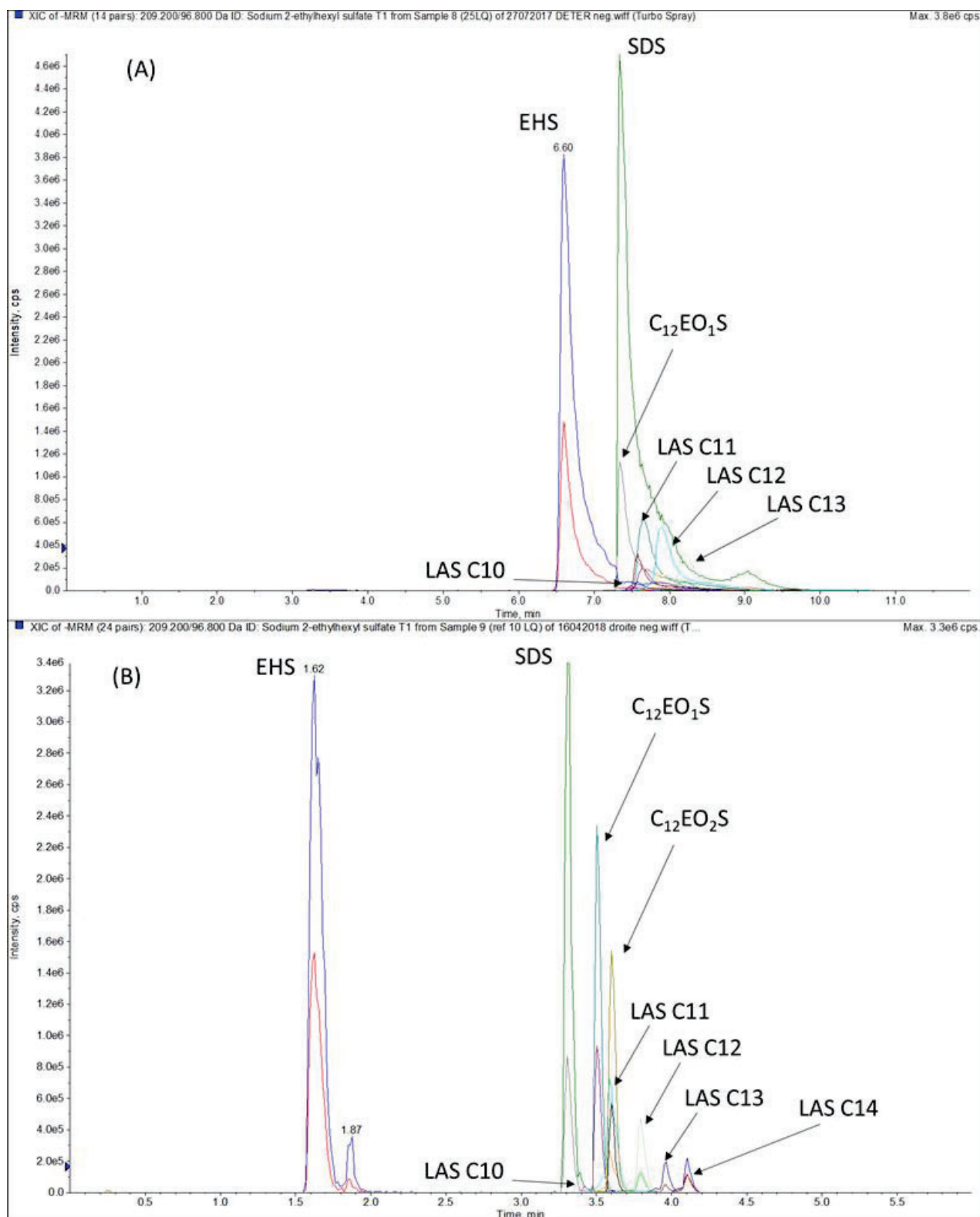


Figure 45: Chromatogrammes des tensioactifs en ESI négative des méthodes (A) RP/éch. Anion et (B) C18

D'autre part, au niveau de la phase stationnaire, deux paramètres principaux expliquent les différences observées : les interactions mis en jeu et la granulométrie. Les énergies de liaison des interactions ioniques (100 – 350 kJ/mol) sont plus fortes que celles des interactions hydrophobes (5 – 10 kJ/mol), ce qui peut expliquer la forme trainante des pics en RP/éch. anion. De plus, la granulométrie de la colonne RP/éch. anion. est de 3 μm , contre 1,9 pour la colonne C18, c'est-à-dire correspondant aux conditions UHPLC. C'est sûrement ce dernier paramètre qui est le plus déterminant puisque l'efficacité est inversement proportionnelle au diamètre des particules (Guillarme 2014). En ESI positive, on peut voir que les formes de pics sont nettement améliorées avec la colonne C18, notamment pour le CMEA et la Cetylbétaïne qui sont les derniers composés élués avec la colonne RP/éch. anion., ce qui permet un gain en sensibilité d'un facteur 10 et 3, respectivement. Par ailleurs, on peut noter la présence de deux pics pour le TMDD, correspondant aux isomères Z et E de l'alcène. En ESI négative, non seulement les pics sont plus fins avec la colonne C18, mais ils sont également mieux séparés. En effet, avec la colonne RP/éch. anion., le pic correspondant au SDS est très large et co-élué avec le $\text{C}_{12}\text{EO}_{10}\text{S}$. Cette co-élution peut engendrer des cross-talks puisque ces deux composés ont les mêmes fragments caractéristiques (cf. Tableau 20). Par conséquent, la méthode avec la colonne C18 a été sélectionnée pour la suite de cette étude.

Différents volumes d'injection ont également été testés de 10 à 40 μL . Le volume de 40 μL permet de gagner en sensibilité par rapport à des volumes inférieurs, tout en gardant de bonnes performances chromatographiques. Un volume de 40 μL d'injection a donc été conservé.

2.3- Température de source d'ionisation

La température de source est l'un des paramètres les plus impactant sur la sensibilité en couplage LC-MS. L'augmentation de celle-ci facilite l'évaporation des solvants et donc le passage en phase gazeuse des composés d'intérêt, améliorant ainsi la sensibilité (Soleilhac et al. 2015). Par contre, une température trop élevée peut induire pour certains composés une fragmentation dans la source, ce qui n'est pas souhaité dans l'analyse de petites molécules par LC-MS (Bure & Lange 2003).

La Figure 46 montre l'effet de l'augmentation de la température de la source ESI sur l'intensité des pics des tensioactifs en ESI positive. Pour cela, une solution mélange de standards à une concentration finale de 100 µg/L a été injectée dans les conditions de la méthode basée sur la colonne C18, à des températures allant de 450 à 650 °C, par palier de 50°C. Hormis le TMDD, les variations de signal liées à la température de source sont inférieures à 25%. Pour une majorité de composés, la température optimum se situe à 550°C. Seul le signal du LaurPyr augmente avec une température plus élevée. Par contre, l'intensité du TMDD diminue drastiquement à des températures supérieures à 450°C, probablement dû à une fragmentation de cette molécule dans la source. C'est pour cette raison qu'une température de source à 450°C a finalement été retenue pour l'analyse des tensioactifs en ESI positive. En ce qui concerne l'ESI négative, la température de source a été fixée à 550°C, conformément à l'étude réalisée préalablement à cette thèse par Bergé et al. 2016, avec le même spectromètre de masse.

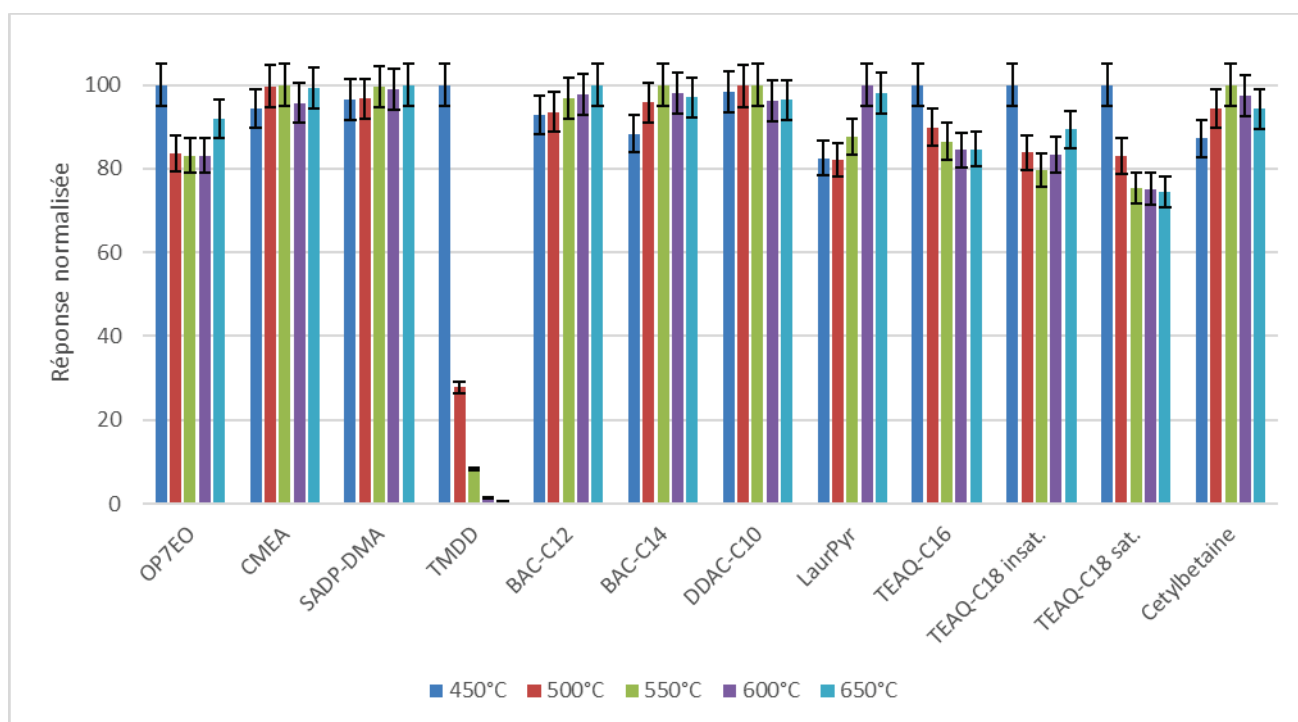


Figure 46: Effet de l'augmentation de la température de source sur la réponse des tensioactifs

3- Quantification par LC-MS/MS

3.1- Caractérisation des étalons commerciaux par LC-MS

Afin de s'assurer de quantifier de manière juste, la première étape est de disposer d'étalons des molécules ciblées d'une grande pureté (souvent supérieure à 95%) ou si aucun n'est disponible commercialement, de caractériser l'étalon en question. Dans le cadre de notre étude, quatre étalons sont des formulations commerciales comprenant un mélange d'isomères dont la proportion n'est pas indiquée par le fournisseur : LAS C10-C13, C₁₂EO₁₋₂S, OP₇₋₁₁EO et TEAQ-C₁₆ et C₁₈ (cf. références dans le Tableau 18).

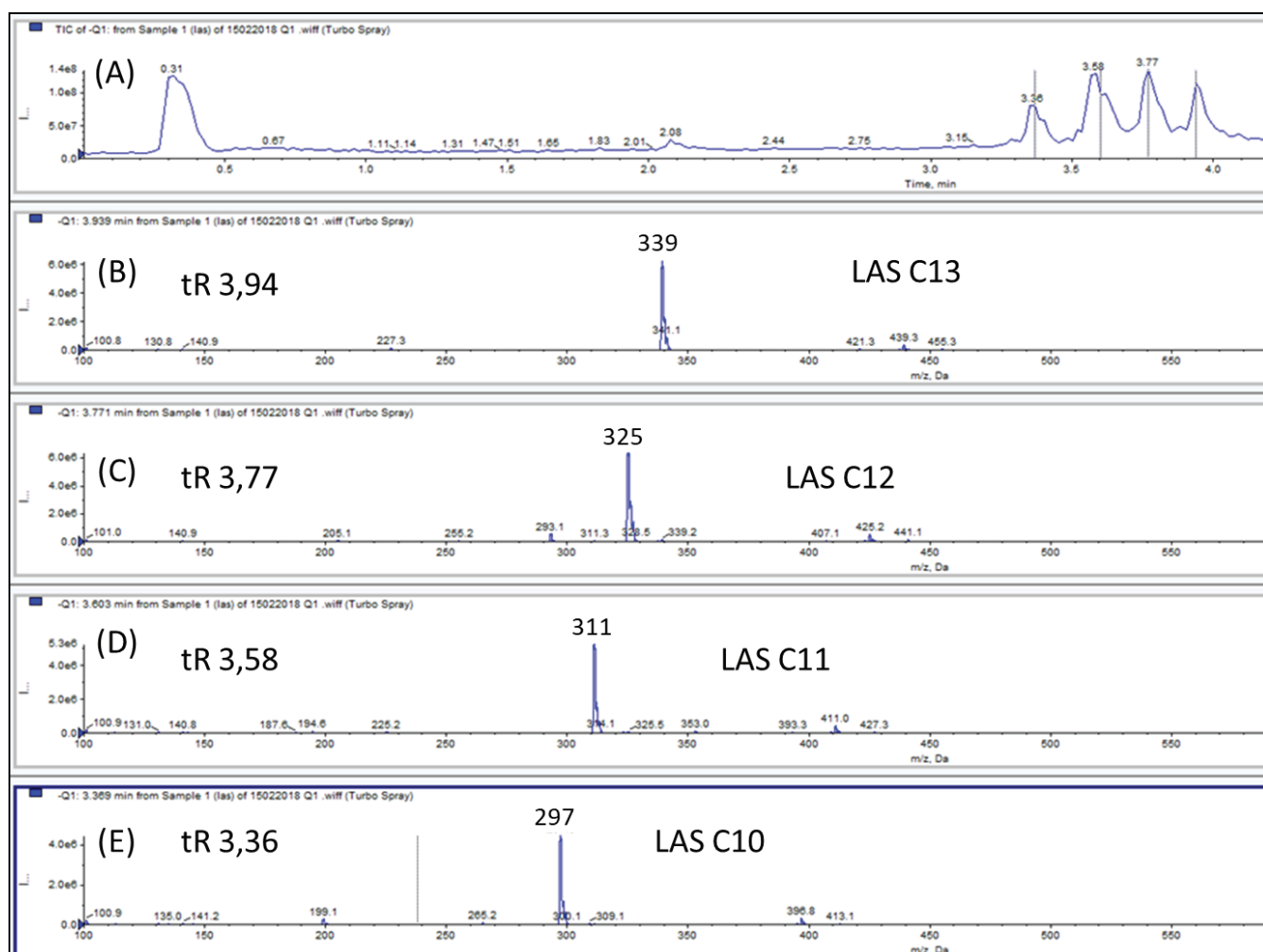


Figure 47: (A) Chromatogramme en full scan de l'étalon des LAS C10 à C13 et spectres de masse correspondant au (B) LAS C13, (C) LAS C12, (D) LAS C11 et (E) LAS C10

En ce qui concerne les OP₇₋₁₁EO, le Triton X-100, qui a été utilisé comme étalon, a été finement caractérisé dans l'étude de DeArmond & DiGoregorio 2013, de laquelle les pourcentages massiques respectifs des oligomères ciblés ont été repris. Au final, les oligomères sélectionnés représentent 70% du Triton X-100. Aucune littérature concernant les trois autres étalons n'ayant été trouvée, nous avons choisi de les caractériser par LC-MS. Pour cela, des solutions de chaque étalon dans les conditions de chromatographie liquide (méthode C18) et de source ESI déjà optimisées ont été injectées, en utilisant une acquisition par le spectromètre de masse en mode balayage (full scan) de 100 à 600 Da.

La Figure 47 présente le chromatogramme et les spectres de masse obtenus pour l'étalon LAS C10-C13. On peut observer les 4 pics correspondant aux 4 homologues des LAS, ainsi que les masses correspondant aux adduits $[M]^-$. Les 4 pics présentent des épaulements dus à la présence des différents isomères de position de chaque LAS. Cependant ces isomères ne sont pas séparés à la ligne de base, ce qui facilitera l'intégration des pics.

L'étalon des C₁₂EO₁₋₂S est nettement plus complexe. Les pics à 3,52 et 3,62 minutes correspondent bien aux substances ciblées, à savoir C₁₂EO₁S et C₁₂EO₂S, c'est-à-dire les oligomères doublement éthoxylés des laureth sulfate (Figure 48). Mais l'oligomère comprenant 3 éthoxy C₁₂EO₃S et surtout le C₁₂EO₀S, plus communément appelé sodium dodecyl sulfate (SDS), sont également détectés et ont des aires comparables aux substances ciblées. La masse de m/z 441, correspondant à C₁₂EO₄S est également détectée mais l'aire du pic correspondant est négligeable.

Le SDS a également été détecté à l'état de traces, principalement dans l'étalon des LAS C10-C13, mais aussi dans d'autres étalons. Etant à la fois un produit de dégradation et une impureté des laureth sulfates, nous avons supposé qu'il pouvait provenir des contenants nettoyés à l'aide de détergents à base de laureth sulfate et ils sont nombreux. La conséquence est que même sans l'ajouter en tant qu'étalon pur à notre mélange de solutions étalons, le signal correspondant au SDS était déjà élevé. Nous avons donc décidé d'une part de ne pas l'ajouter au mélange de solutions étalons. D'autre part, une droite d'étalonnage avec l'étalon pur de SDS a été réalisée afin de déterminer la concentration du SDS dans notre mélange de solutions standards.

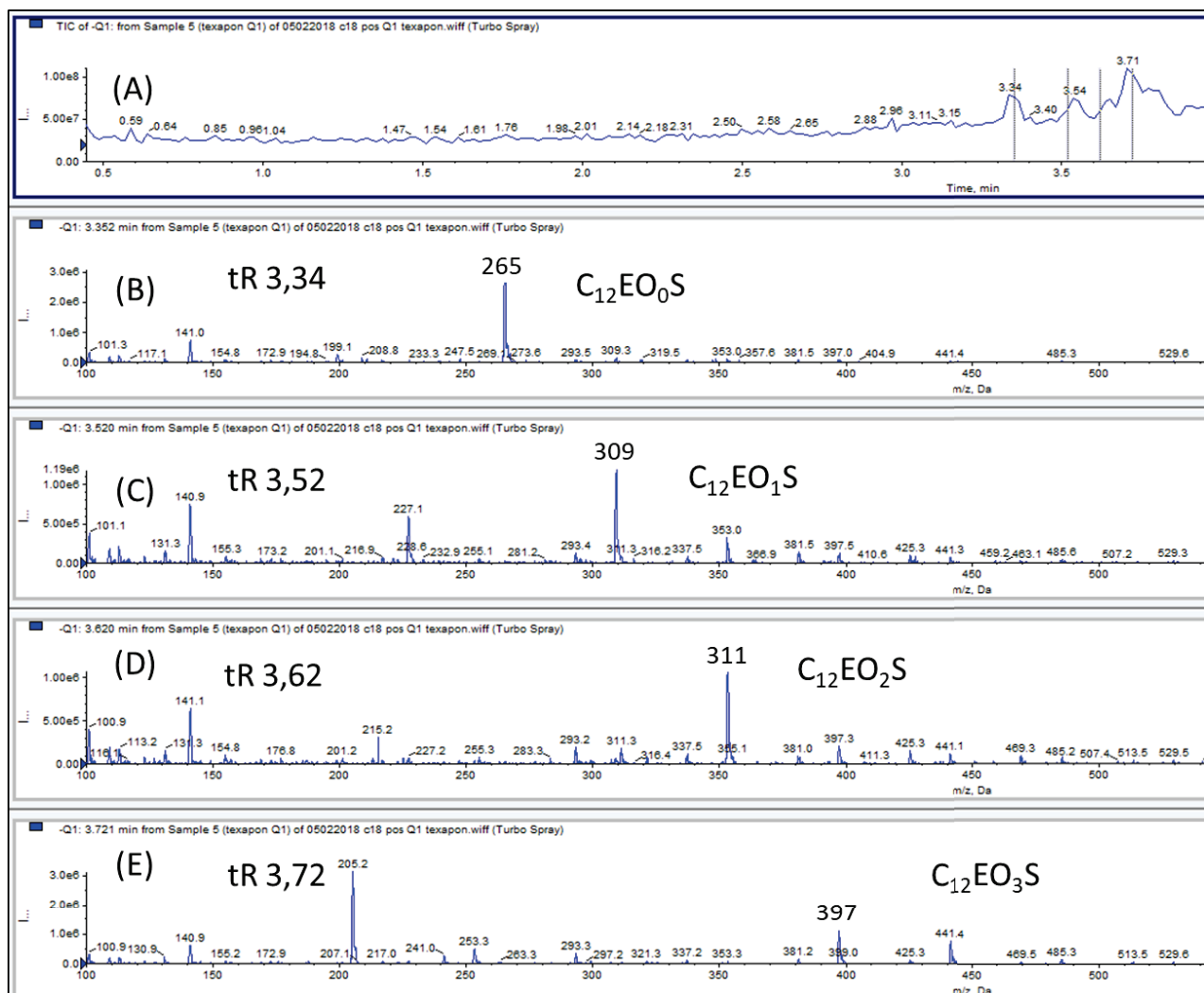


Figure 48: (A) Chromatogramme en full scan de l'étalon des $C_{12}EO_{1-2}S$ et spectres de masse correspondant au (B) $C_{12}EO_0S$ (SDS), (C) $C_{12}EO_1S$, (D) $C_{12}EO_2S$ et (E) $C_{12}EO_3S$

La Figure 49 montre le chromatogramme et les spectres de masse associés à l'étalon des TEAQ- C_{16} et C_{18} . Les 3 pics correspondant aux 3 substances sont visibles, ainsi que les masses respectives des adduits $[M]^+$. Le pic du TEAQ- C_{18} insat est dédoublé. En effet, chacun de ces pics correspond aux isomères Z/E de cette substance.

A partir des aires de chacun des pics présentés ci-dessus, des pourcentages relatifs de chaque substance dans les étalons ont été calculés, en faisant l'approximation que tous les homologues ou oligomères ont des facteurs de réponse identiques. Ces pourcentages, ainsi que ceux des $OP_{7-11}EO$, sont résumés en Annexe 3.

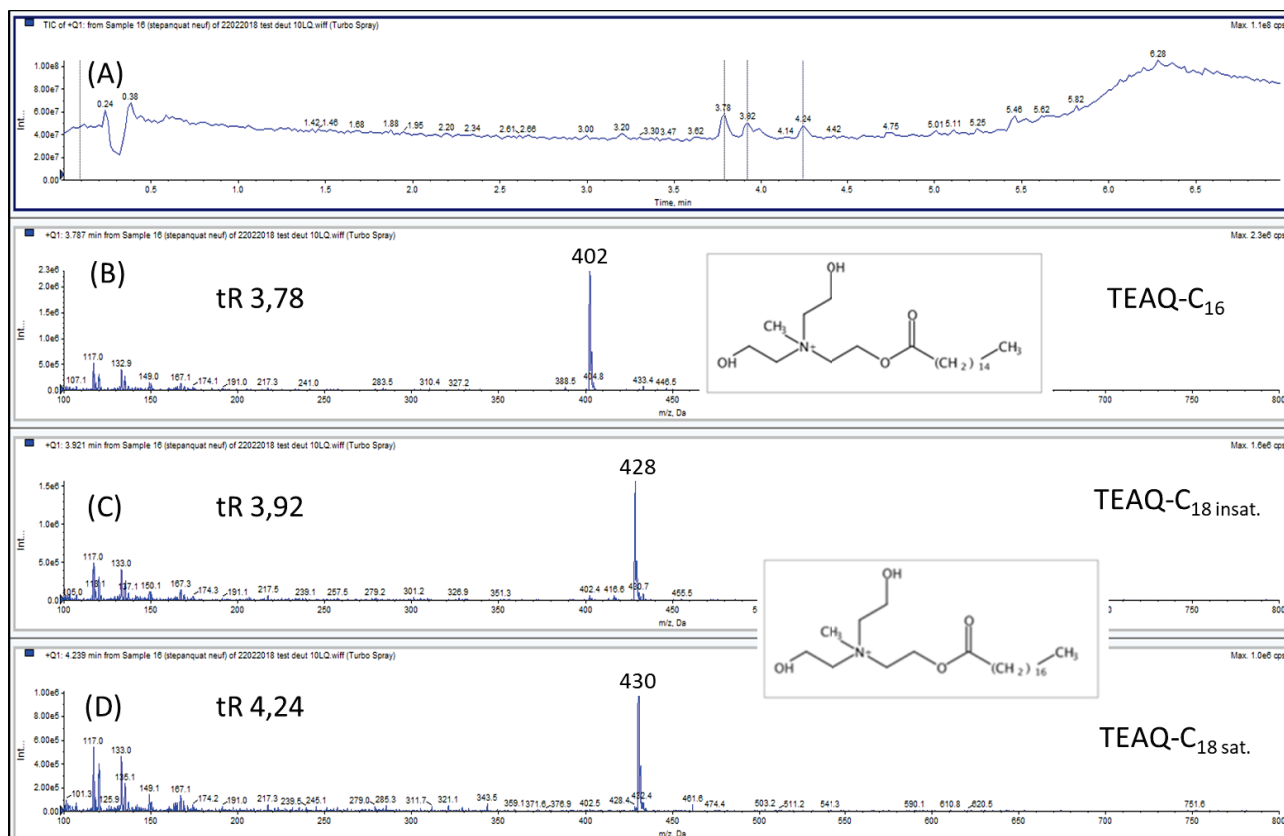


Figure 49: (A) Chromatogramme en full scan de l'étalon des TEAQ-C16 et C17 et spectres de masse correspondant au (B) TEAQ-C16, (C) TEAQ-C17 insat., (D) TEAQ-C17 sat.

3.2- Contaminations des blancs instrumentaux

Dès les premières optimisations de la méthode LC-MS/MS, la présence de certaines des molécules ciblées dans le solvant d'injection, utilisé pour réaliser les blancs instrumentaux a été constatée (voir définition dans Lalère 2017). Le solvant d'injection optimisé est composé d'un mélange acétonitrile/eau /NH₄OH à 25%, 30/65/5. Le NH₄OH est important puisqu'il permet à la fois d'apporter des ions ammonium, augmentant ainsi la sensibilité des molécules sous forme d'adduits [M+NH₄]⁺ et de maintenir un pH faiblement basique afin de garder les tensioactifs cationiques sous forme neutre et éviter leur adsorption sur les parois des vials.

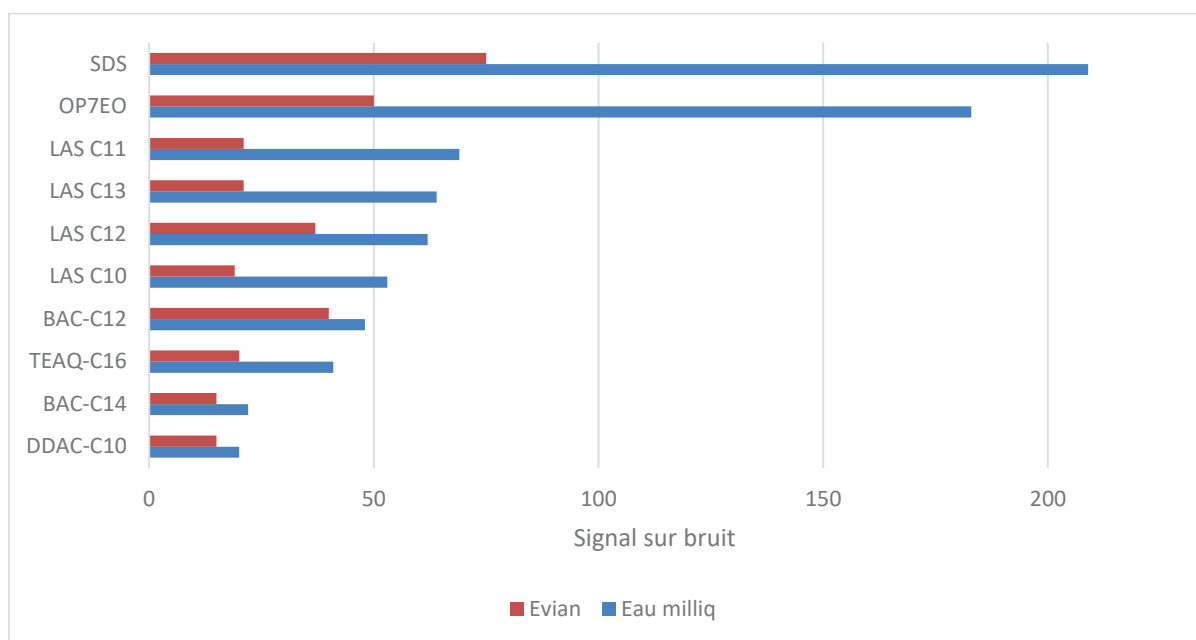


Figure 50: Signal sur bruit des blancs analytiques composés d'eau MilliQ et eau Evian®

Afin, de limiter cette contamination, des solvants et sels (acétonitrile et NH_4OH) de différents fournisseurs ont d'abord été testés, mais sans succès. Puis différentes eaux ont été utilisées: eau issue d'un système de filtration MilliQ (Millipore), eau grade LC-MS, et enfin eau Evian® conditionnée dans des bouteilles en verre. En effet, cette dernière est très souvent utilisée dans les laboratoires de référence pour réaliser les blancs analytiques. La Figure 50 présente la comparaison des signaux sur bruit entre eau MilliQ et eau Evian®. Les trois types de tensioactifs, non-ioniques, anioniques et cationiques sont concernés par les problèmes de contamination. Si les problèmes de contamination liées aux LAS et aux APEO ont déjà été référencés (Salgueiro-Gonzalez et al. 2012, Li et al. 2020), il existe peu ou pas de données concernant le SDS, les BAC, les DDAC et les TEAQ. On a pu observer également une augmentation de la contamination en TEAQ au début de notre étude, qui s'est finalement stabilisée. Il est possible que ces composés qui sont à la fois cationiques et hydrophobes s'adsorbent à l'état de traces dans tous les compartiments du système de chromatographie liquide.

D'autre part, l'utilisation d'eau Evian® permet de diminuer drastiquement les contaminations liées au solvant d'injection. L'utilisation d'eau grade LC-MS donne des contaminations intermédiaires entre eau MilliQ et eau Evian®. Ce changement d'eau permet de diminuer le S/B des blancs analytiques mais les S/B restent malgré tout élevés, entre 15 pour le DDAC-C₁₀

et 75 pour le SDS. Il est à noter que grâce à l'injection d'eau Evian®, les S/B des OPEO dans les blancs ont fini par être inférieurs à 3.

La calcination à 450°C des vials a également été testée mais n'a pas montré d'amélioration. Enfin, l'impact d'une filtration avec filtres PTFE 0,45 µm a été évalué. Cette dernière engendre l'augmentation de la contamination de la plupart des molécules, en particulier les OPEO. Les filtres sont sûrement contaminés par ces substances et les relarguent pendant la filtration.

3.3- Paramètres et performances instrumentales de la méthode optimisée

Le Tableau 21 résume les paramètres d'identification des molécules ciblées, à savoir le temps de rétention (t_R) et le rapport des transitions MRM de quantification et de confirmation (MRM ratio), ainsi que les concentrations estimées dans les blancs analytiques et les limites de quantification instrumentales (LQ_{instr} équivalent à la concentration pour laquelle le S/B est supérieur à 10 fois le blanc). Les ions parents et ions fils suivis apparaissent quant à eux dans le Tableau 20. Les temps de rétention et MRM ratio seront utilisés pour identifier les molécules dans les échantillons réels selon les critères de la norme SANTE/12682/2019 (SANTE 2020): t_R à $\pm 0,1$ min et MRM ratio à $\pm 30\%$ par rapport au standard analytique injecté dans la même séquence.

Selon la présence ou non des substances dans les blancs analytiques, les LQ_{instr} ont été calculées différemment. Pour les composés dont le S/B dans les blancs analytiques est supérieur à 10, la LQ_{instr} a été évaluée à dix fois la concentration estimée dans les blancs analytiques. Pour les autres composés, les LQ_{instr} correspond à la concentration à laquelle le S/B est égal à 10. Il est à noter que sur les 27 substances ciblées, 13 molécules, c'est-à-dire la moitié, présentent des contaminations dans les blancs analytiques. Celles-ci sont sûrement liées à l'usage intensif des tensioactifs dans tous les domaines, et en particulier dans l'industrie chimique, qui produit les matériaux que nous utilisons dans nos laboratoires. Les substances les plus problématiques sont les LAS C11 à C13, le 1-laureth sulfate ($C_{12}EO_1S$), le SDS, le BAC- C_{12} et le TEAQ- C_{16} , avec des concentrations dans les blancs analytiques supérieures à 0,5 µg/L, ce qui induit des LQ_{instr} supérieures à 5 µg/L. Les LQ_{instr} s'échelonnent donc entre 0,2 µg/L (TMDD, BAC- C_{16} et C_{18}) et 30 µg/L pour le SDS. Les concentrations recherchées dans les eaux de surface étant généralement inférieures à 0,1 µg/L, la sensibilité de cette méthode n'est donc pas suffisante et

la mise au point d'une étape de préconcentration va être nécessaire, ce qui fait l'objet du prochain chapitre.

Tableau 21: Temps de rétention (t_R) , rapport moyen des transitions MRM de quantification et de confirmation (MRM ratio), concentrations estimées dans les blancs analytiques et limites de quantification instrumentales

Nom	t_R (min)	MRM ratio	Concentration dans les blancs ($\mu\text{g/L}$)	LQ_{instr} ($\mu\text{g/L}$)
ESI négative				
LAS C10	3,35	2,4	0,2	2
LAS C11	3,57	3,2	2	20
LAS C12	3,77	3,8	1,5	15
LAS C13	3,94	4,0	1	10
LAS C14	4,09	5,4	S/B <10	0,5
C ₁₂ EO ₁ S	3,49	1,0	1	10
C ₁₂ EO ₂ S	3,58	3,3	0,8	8
SDS	3,29	6,3	3	30
EHS	1,60	3,4	S/B <10	0,5
ESI positive				
OP ₇ EO	3,87	1,2	S/B <10	0,8
OP ₈ EO	3,90	1,4	S/B <10	0,8
OP ₉ EO	3,92	1,5	S/B <10	0,8
OP ₁₀ EO	3,93	1,4	S/B <10	0,8
OP ₁₁ EO	3,95	1,8	S/B <10	0,8
CMEA	3,21	2,2	S/B <10	1,0
TMDD	2,58	3,0	S/B <10	0,2
BAC-C ₁₂	2,78	3,4	0,5	5,0
BAC-C ₁₄	3,40	3,3	0,4	4,0
BAC-C ₁₆	3,88	4,3	S/B <10	0,2
BAC-C ₁₈	4,33	2,7	S/B <10	0,2
DDAC-C ₁₀	3,62	17	0,1	1,0
LaurPyr	2,25	5,8	S/B <10	0,3
TEAQ-C ₁₆	3,80	12	0,6	6,0
TEAQ-C ₁₈ insat.	3,93	5,2	0,3	3,0
TEAQ-C ₁₈ sat.	4,26	6,8	0,1	1,0
SADP-DMA	4,36	11	S/B <10	0,5
Cetylbétaïne	4,21	12	S/B <10	0,5

Principaux résultats du chapitre II

Analyse par LC-MS/MS

- Les molécules ciblées dans cette étude comprennent à la fois des tensioactifs anioniques (9 substances), non-ioniques (7 substances) et cationiques (11 substances), soit un total de 27 molécules individuelles à analyser.
- Les adduits majoritaires formés dans la source électrospray sont $[M]^-$ pour les LAS, lauryl et laureth sulfate, $[M]^+$ pour les ammonium quaternaires et $[M+NH_4]^+$ pour les OPEO et TMDD.
- Quatre étalons commerciaux composés d'un mélange d'homologues et isomères ont été caractérisés par LC-MS
- Sur les 27 substances ciblées, 13 molécules, c'est-à-dire la moitié, présentent des contaminations dans les blancs analytiques à des concentrations de 0,1 $\mu\text{g/L}$ pour le DDAC- C_{10} à 3 $\mu\text{g/L}$ pour le SDS.
- Les limites de quantification instrumentales obtenues sont environ 100 fois trop élevées par rapport aux concentrations habituellement recherchées dans les eaux de surface. Une étape de préconcentration va donc être nécessaire en vue d'atteindre une sensibilité suffisante.

Chapitre III : Préparation des échantillons environnementaux et validation des méthodes d'analyse

Dans ce chapitre est présenté le développement de la préparation d'échantillons des tensioactifs pour l'analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), de matrices environnementales ainsi que la validation des protocoles finalisés.

La partie 1 est consacrée à l'optimisation et la validation de la préparation d'échantillons en vue de l'analyse des eaux de surface. Tout d'abord, différents types de cartouches d'extraction sur phase solide (SPE) sont étudiés. Puis, en raison d'une contamination des blancs méthode, différents paramètres du protocole sont optimisés afin de limiter et stabiliser ces contaminations. Les résultats de la validation intralaboratoire du protocole final de SPE hors ligne couplée à l'analyse par LC-MS/MS sont ensuite résumés. Enfin, les résultats d'une étude de stabilité à 7 jours, à température ambiante et à 4°C sont présentés.

La partie 2 présente l'optimisation et la validation de la préparation d'échantillons en vue de l'analyse des sédiments. Deux types d'extraction, l'extraction liquide-liquide assistée par les sels et vortex et l'extraction assistée par ultrasons sont comparées, d'abord en matière de contamination des blancs méthode, puis en matière d'efficacité d'extraction. Puis, les résultats de la validation intralaboratoire du protocole final d'extraction assistée par ultrasons et analyse par LC-MS/MS sont présentés.

1- Eau de surface

1.1- Mise au point de l'étape de préconcentration

1.1.1- Facteurs de concentration à atteindre

Une étape primordiale dans l'optimisation d'une méthode de préparation d'échantillons est de clairement définir les objectifs, notamment en matière de sensibilité à atteindre. En effet, les techniques disponibles étant nombreuses (Majors 2012), il n'est pas possible de toutes les tester et il est donc important de bien choisir au préalable.

Tableau 22: Limites de quantification instrumentales, PNEC^c et facteurs de concentration à atteindre par ordre décroissant

Nom	LQinstr (µg/L)	PNEC ^c (µg/L)	Facteur de concentration
LAS C13	10	0,085	117
LAS C12	15	0,2	75
LAS C11	20	1	20
OPEO ^a	4	0,28	14
C ₁₂ EO ₁ S	10	1	10
C ₁₂ EO ₂ S	8	1	8
LaurPyr	0,3	0,047	6
TEAQ-C ₁₆	6	1	6
BAC-C ₁₂	5	1	5
DDAC-C ₁₀	1	0,2	5
BAC-C ₁₄	4	1	4
TEAQ-C ₁₈ ^b	4	1	4
LAS C10	2	1	2
SADP-DMA	0,5	0,51	1
CMEA	1	1,35	0,7
SDS	30	65	0,5
Cetylbétaïne	0,5	1	0,5
EHS	0,5	11	0,05
TMDD	0,2	16	0,01
LAS C14	0,5	nd	nd

^aSomme des OP₇₋₁₁EO

^bSomme des TEAQ-C₁₈ insaturé et saturé

^cINERIS 2020

nd: non déterminé

Dans le cadre de cette thèse, le 1^{er} objectif que nous nous sommes fixés est de développer une méthode qui permet d'extraire les 25 substances ciblées en un minimum d'étapes, si possible en une seule étape. Le 2nd est d'obtenir une sensibilité pertinente par rapport à l'objectif de la campagne « Emergents Nationaux 2018 » (EMNAT), c'est-à-dire évaluer les concentrations de polluants émergents dans les eaux mais également leur potentiel impact écotoxicologique. Pour cela, il est nécessaire que les limites de quantification soient inférieures aux PNEC.

Le Tableau 22 résume les limites de quantification instrumentales, les PNEC et les facteurs de concentration de l'échantillon nécessaires pour obtenir une sensibilité compatible avec les PNEC. Il est à noter que pour six de ces substances (facteur de concentration inférieur ou égal à 1), l'analyse LC-MS/MS suffirait à elle seule pour obtenir des limites de quantification suffisantes. Par contre, certaines substances requièrent des facteurs de concentration supérieurs à 10, tels que le 1-laureth sulfate, les OP₇₋₁₁EO, les LAS C11 à C13. Ces derniers font également partie des molécules présentant les S/B les plus élevés dans les blancs analytiques. Il faudra donc être vigilant à ne pas induire de contamination supplémentaire lors de l'étape de préconcentration. Enfin, à notre connaissance, aucune PNEC n'est définie pour le LAS C14. Cependant, le caractère écotoxique d'une molécule dépendant fortement de son hydrophobicité, de laquelle découlent ses capacités de bioaccumulation, la PNEC du LAS C14 devrait a priori être inférieure à celle du LAS C13, et donc de l'ordre de la dizaine de ng/L.

Compte-tenu de ces facteurs de concentration à atteindre élevés et de la possibilité de disposer d'un volume d'échantillon conséquent (supérieur à 100 mL), la technique de préparation d'échantillon la plus compatible avec nos objectifs et qui est également la plus utilisée dans la littérature pour l'analyse des micropolluants organiques dans les eaux de surface est l'extraction sur phase solide (SPE).

1.1.2- Choix de la phase SPE

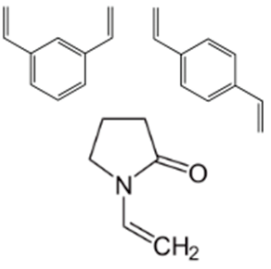
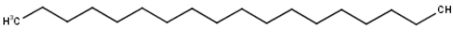
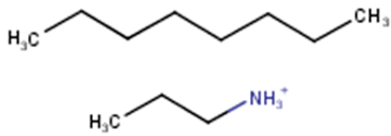
Les mécanismes de rétention mis en œuvre en chromatographie liquide et en SPE sont similaires (Wells 2000). Comme en LC, les tensioactifs possédant à la fois des fonctions hydrophobes et ioniques, ils peuvent à la fois créer des interactions hydrophobes ou ioniques avec les phases des cartouches SPE. Parmi celles retrouvées dans la littérature (cf. Tableau 12), notre choix s'est porté sur trois types de phases : la 1^{ère} est une phase polymérique alliant groupements hydrophobes et hydrophiles, OasisTM HLB (Waters©), qui est la phase majoritairement utilisée.

Elle est issue de la polymérisation de 2 monomères : un lipophile, divinylbenzène et un hydrophile, N-vinylpyrrolidone (Tableau 23). La phase Oasis HLB présente plusieurs avantages : elle est universelle, ses greffons benzéniques permettent des interactions π - π avec les groupes phényles des tensioactifs et, en tant que phase polymérique, elle dispose d'une grande capacité de charge et ne s'altère pas au cours des étapes de séchage.

Les phases silice greffée C18 étant également fréquemment sélectionnées dans la littérature, la Strata-C18-E™ (Phenomenex©) qui est composée de silice greffée endcappée, ce qui permet de réduire les silanols résiduels, a été sélectionnée.

Enfin, la 3^{ème} est une phase qui allie interactions hydrophobes et échanges anioniques, composée de silice greffée C8 et aminopropyl, Cunax2™ (United Chemical Technologies©). Avec cette dernière phase, une méthode d'extraction de détergents avait déjà été optimisée au sein de notre laboratoire (Bergé et al. 2016). Nous avons donc choisi de conserver les paramètres optimisés de cette méthode et de comparer les performances avec les trois types de cartouches.

Tableau 23: Greffons principaux des phases solides SPE testées et interactions avec les composés d'intérêt mises en jeu

Phase solide	Greffons principaux	Interactions mises en jeu
Oasis™ HLB (Waters©)		π - π Liaison hydrogène
Strata-C18-E™ (Phenomenex©)		Hydrophobe
Cunax2™ (United Chemical Technologies©)		Hydrophobe Echange anionique

Les extractions ont été réalisées sur un extracteur automatique de la marque Thermo Scientific™, nommé AutoTrace™ 280 avec les conditions suivantes :

- Cartouches testées :

- Oasis HLB, 6 mL, 150 mg

- Strata-C18-E, 3 mL, 200 mg

- Cunax2, 3 mL, 200 mg

- Protocole de conditionnement, chargement et élution :

- conditionnement de la colonne par 8 mL de méthanol et 4 mL d'eau qualité LC-MS et 4 ml de tampon phosphate 0,1 M (pH=6) (le tampon phosphate est composé de 13 mL de K₂HPO₄ à 1M et 87 mL de KH₂PO₄ à 1M, dans 1 L)

- percolation de 250 mL d'échantillon à 10 mL/min

- rinçage de la colonne par 5 mL de tampon phosphate 0,1M (pH 6)

- séchage sous azote pendant 5 min

- élution par 2 fois 5 mL d'acétonitrile dans un tube A

- élution par 2 fois 5 mL d'acétonitrile/ NH₄OH (solution à 25%) 95/5 dans un tube B

- Evaporation à sec des éluats des tubes A et B, et reprise avec 1 mL d'un mélange acétonitrile/eau Evian®/NH₄OH à 25% 30/65/5.

Chaque échantillon est constitué d'eau LC-MS dopée avec tous les étalons à environ 1 µg/L. Le facteur de concentration de l'échantillon obtenu avec ce protocole est de 250. Chaque expérience a été réalisée en triplicats.

La Figure 51 présente les aires des pics chromatographiques des tensioactifs anioniques, normalisées à 100, en fonction des 3 types de phases solides utilisées.

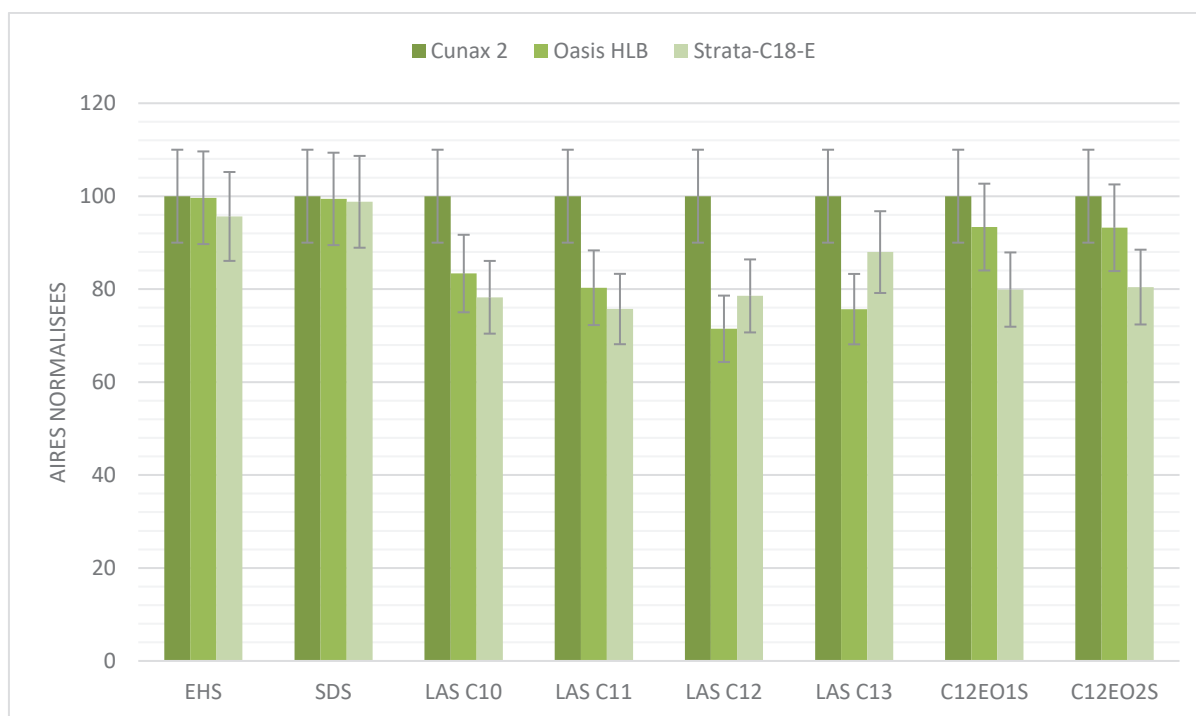


Figure 51: Comparaison des performances des trois cartouches SPE: Aires des pics chromatographiques des tensioactifs anioniques normalisées à 100

Les trois familles de tensioactifs présentent des tendances différentes :

- Alkylsulfates (EHS et SDS) : les performances des 3 cartouches sont très similaires, avec une légère baisse, inférieure à 10%, en ce qui concerne la Strata-C18-E.
- LAS C10 à C13 : la cartouche Cunax2 permet d'obtenir les meilleurs rendements, ce qui est sûrement lié à la présence de sites d'échanges anioniques qui permettent de mieux retenir ces composés. Après la cartouche Cunax2, c'est l'Oasis HLB qui donne les meilleures performances pour les LAS C10 et C11, tandis que pour les LAS C12 et C13, c'est la Strata-C18-E. Des rendements d'extraction plus faibles avec l'Oasis HLB pour les LAS C12 et C13 ont également été reportés par Lara-Martin et al. 2011. Cette différence peut s'expliquer par une plus grande longueur de chaîne alkyle des LAS C12 et C13 qui permet une meilleure interaction avec les chaînes C18. Toutefois, les performances entre ces deux cartouches restent comparables.

- Laureth sulfates ($C_{12}EO_{1-2}S$): la Cunax2 donne les meilleurs résultats suivis, de l'Oasis HLB et enfin de la Strata-C18-E, avec une perte de 20% entre la Strata-C18-E et la Cunax2.

Globalement, c'est donc la Cunax2 qui donne les meilleures performances pour tous les tensioactifs anioniques, comme reporté dans Bergé et al. 2016. Cependant, les cartouches Oasis HLB et Strata-C18-E permettent également une bonne rétention de ces composés puisque les pertes observées sont inférieures à 25%, ce qui est conforme à la littérature.

L'effet de l'utilisation des trois types de phases solides sur les aires des pics chromatographiques des tensioactifs non-ioniques est représenté en Figure 52.

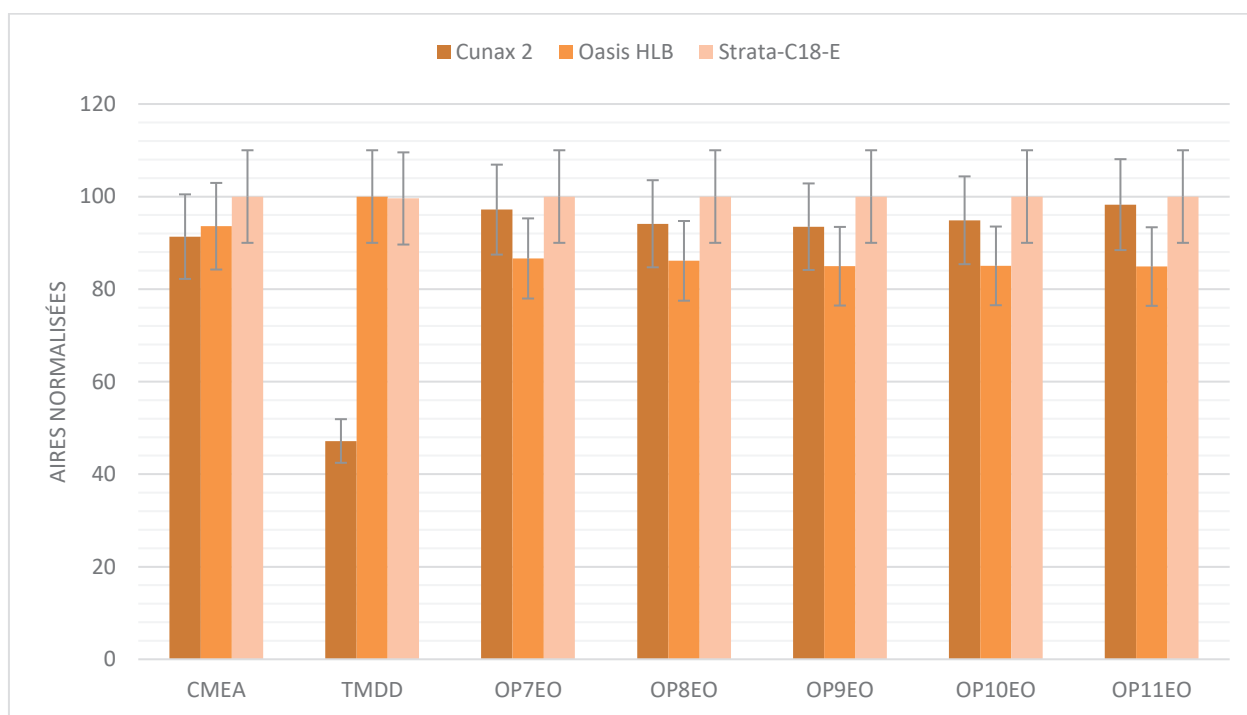


Figure 52: Comparaison des performances des trois cartouches SPE: Aires des pics chromatographiques des tensioactifs non-ioniques normalisées à 100

Globalement, comme pour les tensioactifs anioniques, hormis pour le TMDD, les trois phases solides donnent des performances similaires, avec des pertes observées inférieures à 20%. Des aires légèrement supérieures sont tout de même observées avec la Strata-C18-E. Ces observations sont cohérentes avec l'étude de DeArmond & DiGoregorio 2013, dans laquelle ont été comparées les phases solides Oasis HLB, C18 et C8 pour l'extraction des NPEO et OPEO. Concernant le TMDD, des rendements environ 2 fois plus faibles sont observés avec la

Cunax2. Ceci peut être lié au fait que le TMDD, contrairement aux autres tensioactifs non-ioniques, ne possède pas de longue chaîne alkyle. Il est donc possible que la chaîne alkyle en C8 de la Cunax2 ne soit pas assez hydrophobe pour retenir ces composés.

Les résultats concernant les tensioactifs cationiques et zwitterionique sont nettement plus contrastés (Figure 53).

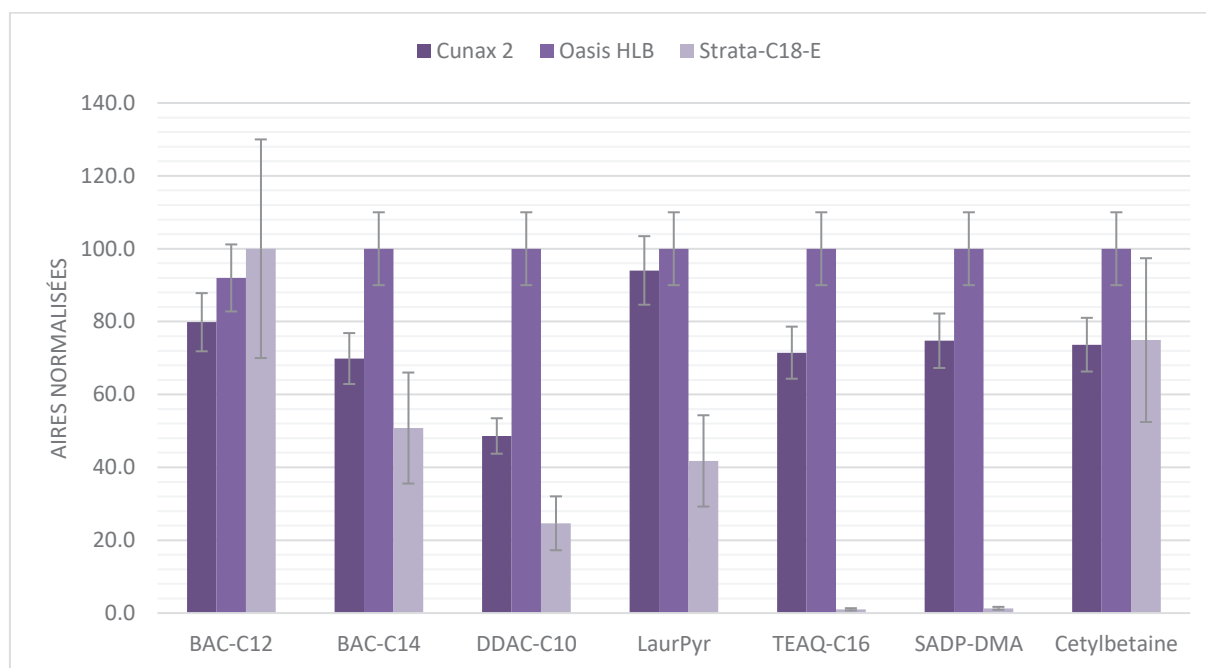


Figure 53: Comparaison des performances des trois cartouches SPE: Aires des pics chromatographiques des tensioactifs cationiques et zwitterionique normalisées à 100

Globalement la phase solide Oasis HLB donne les aires les plus élevées et la Strata-C18-E, les plus faibles. Pour le BAC-C12, la moyenne des aires est supérieure avec la phase C18 mais la répétabilité est mauvaise, comme on peut le voir également pour la cetylbétaïne. Pour les autres tensioactifs cationiques, les performances de la Strata-C18-E sont nettement inférieures à celles des deux autres phases avec une perte de quasi 100% pour le TEAQ-C₁₆ et le SADP-DMA. Les performances obtenues avec la Cunax2 sont inférieures mais assez proches de celles de l'Oasis HLB. L'Oasis HLB étant la phase solide la plus reportée pour l'extraction des tensioactifs cationiques (Ostman et al. 2017), ces observations sont cohérentes avec la littérature.

En résumé, la phase solide optimale est différente pour chaque type de tensioactif : Cunax2 pour les anioniques, Strata-C18-E pour les non-ioniques et Oasis HLB pour les cationiques.

L'objectif d'extraire les 27 substances en une seule étape impose donc de trouver le meilleur compromis. Dans notre cas, même si elle n'est pas optimum pour les LAS, c'est finalement l'Oasis HLB qui globalement permet d'extraire le plus efficacement tous les tensioactifs ciblés.

Le facteur de concentration théorique, c'est-à-dire en supposant des rendements d'extraction de 100%, obtenu à partir de ce protocole est de 250. Mais comme un compromis a été choisi, les rendements ne peuvent pas être de 100%. Afin de s'assurer d'obtenir des facteurs de concentration suffisants, nous avons décidé d'augmenter ce facteur en passant le volume d'échantillon percolé sur la cartouche SPE de 250 mL à 400 mL, et en diminuant le volume de reprise après évaporation de l'extrait de 1 mL à 800 μ L. Ceci permet de doubler le facteur de concentration théorique qui est alors de 500.

1.2- Etude de la contamination apportée par la préparation d'échantillon

Ayant déjà observé des contaminations de l'eau LC-MS au cours du développement de la méthode d'analyse par LC-MS/MS (Chapitre II, Partie 3) mais une nette diminution de ce signal dans les blancs en utilisant de l'eau Evian® dans le solvant d'injection, l'eau Evian® (conditionnée dans des bouteilles en verre) a été sélectionnée comme matrice de référence pour cette étude. Chaque échantillon issu des différentes expériences a été extrait par SPE selon les conditions suivantes :

- Cartouche : Oasis HLB, 6 mL, 150 mg
- Protocole de conditionnement, chargement et élution :
 - conditionnement de la colonne par 8 mL de méthanol et 4 mL d'eau qualité LC-MS et 4 mL de tampon phosphate 0,1 M (pH=6)
 - percolation de 400 mL d'échantillon à 10 mL/min
 - rinçage de la colonne par 5 mL de tampon phosphate puis séchage sous azote pendant 5 min
 - élution par 2 fois 5 mL d'acétonitrile dans un tube A
 - élution par 2 fois 5 mL d'acétonitrile/ NH₄OH (solution à 25%) 95/5 dans un tube B
- Evaporation à sec des éluats et reprise avec 800 μ L d'un mélange acétonitrile/eau Evian®/NH₄OH à 25% 30/65/5.

Différents paramètres ont été testés afin de réduire les contaminations : étape de filtration, solvants de conditionnement et d'élution, tubes d'élution, vials d'injection. Deux de ces paramètres ont permis de baisser significativement les niveaux des blancs : l'étape de filtration et les tubes d'élution.

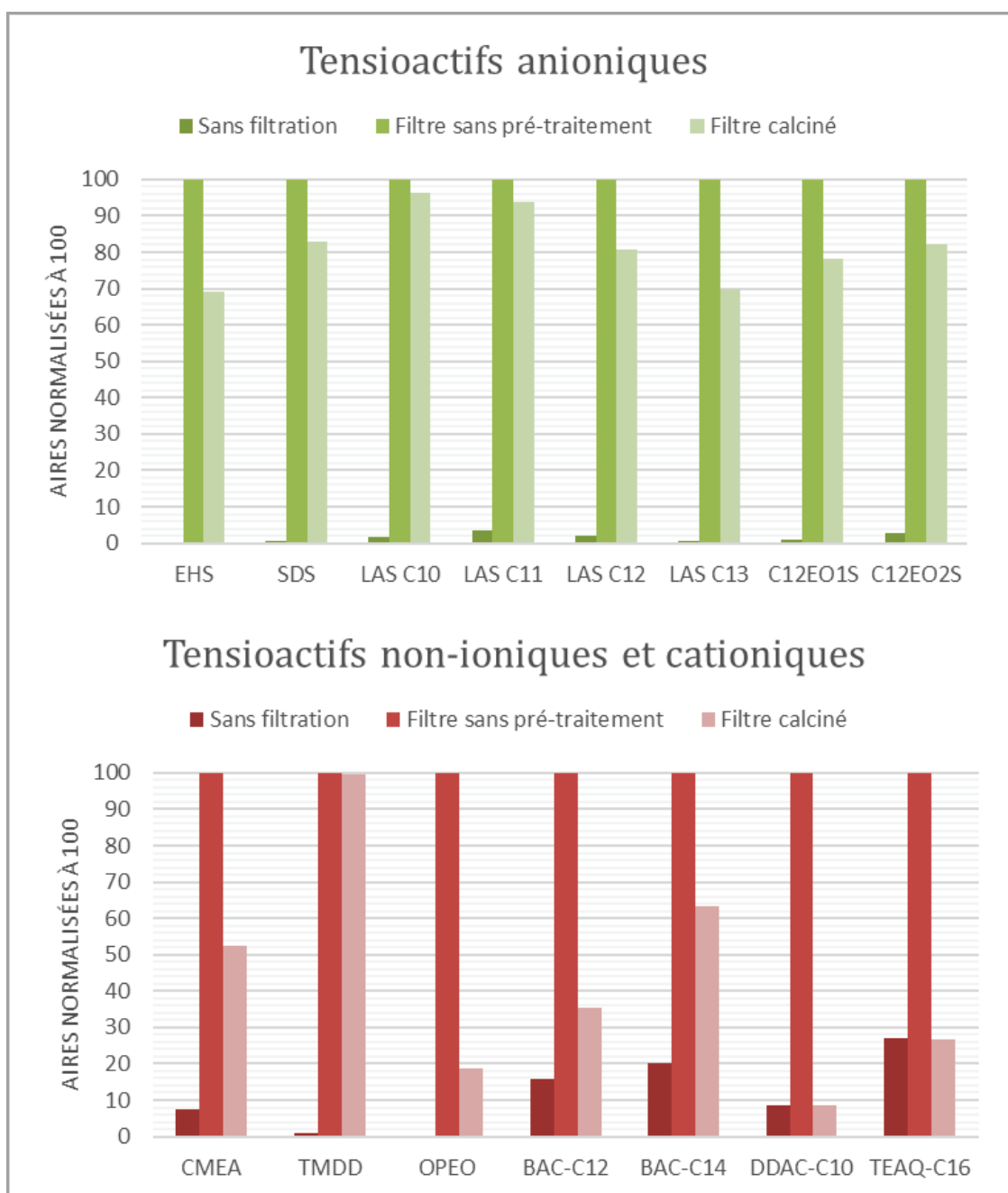


Figure 54: Contamination apportée par l'étape de filtration et effet de la calcination préalable du filtre

Sur les 27 substances ciblées, seulement six présentent un signal sur bruit inférieur à 10 dans les blancs méthode (voir définition dans Lalère 2017) : LAS C14, BAC-C₁₆ et C₁₈, lauryl

pyridinium, SADP-DMA et cetylbétaïne. Pour les autres substances, nous avons cherché à diminuer le signal des blancs méthode.

- Dans un premier temps, l'apport lié à l'étape de filtration a été évalué, en particulier l'impact de la calcination des filtres en fibre de verre, comme reporté par Loyo-Rosales et al. (2003). Les filtres utilisés sont les suivants : filtres Merck© en fibre de verre sans liant, porosité de 0,7 μm , diamètre de 142 mm.

La Figure 54 montre les aires normalisées à 100 des blancs méthode réalisés sans filtration et avec filtration en utilisant un filtre sans pré-traitement et un filtre préalablement calciné à 450°C pendant 8h. Pour ces 15 substances, la contamination apportée par l'étape de filtration est considérable. Pour les tensioactifs non-ioniques et cationiques, la calcination du filtre est relativement efficace avec une diminution du signal entre 40% pour la BAC-C₁₄ et 90% pour le DDAC-C₁₀. De plus, le signal des blancs méthode du TEAQ-C₁₆ et DDAC-C₁₀ est le même sans filtration et avec calcination du filtre. Seule la contamination du TMDD ne diminue pas, mais celle-ci est en absolu beaucoup plus faible, de l'ordre de 10 ng/L comparé à 100 ng/L pour les AS et AES. Par contre, avec des diminutions inférieures à 30%, la calcination s'avère moins efficace en ce qui concerne les tensioactifs anioniques qui sont très stables thermiquement.

- Dans un second temps, l'apport lié à deux autres étapes a été étudié : l'étape de rinçage du système de filtration (Système IT30 142 HW de Millipore™) et la calcination préalable des tubes de récupération des éluats (tubes 15 mL en pyrex).

La Figure 55 montre les aires normalisées à 100 des blancs méthode, après un rinçage du système de filtration à l'éthanol, à l'eau minérale Evian® (conditionnée dans des bouteilles en verre), et enfin après rinçage à l'eau minérale et avec des tubes d'élution préalablement calcinés à 450°C pendant 8h. On peut observer que, comme suggéré par Freeling et al. (2019), la calcination des tubes est efficace pour diminuer le niveau des blancs. En ce qui concerne les tensioactifs anioniques et non-ioniques (CMEA, TMDD et OPEO), la combinaison du rinçage à l'eau minérale et de la calcination des tubes d'élution permet d'abaisser le signal des blancs méthode de plus de 50%. Le pourcentage de diminution est moins élevé pour les tensioactifs cationiques mais restent tout de même intéressants.

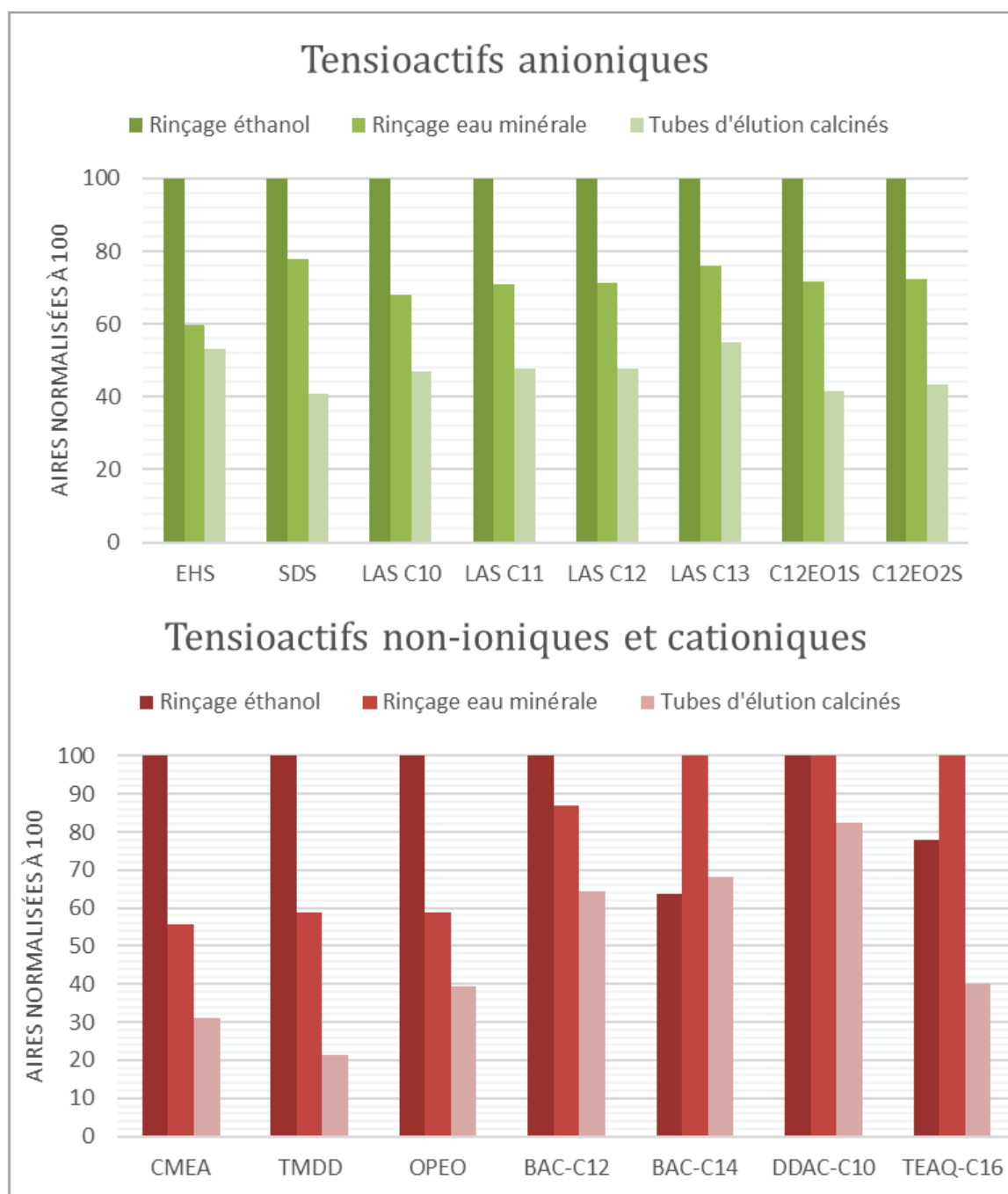


Figure 55: Contamination apportée par le solvant de rinçage du système de filtration et effet de la calcination préalable des tubes d'élution

1.3- Validation intralaboratoire de la méthode d'analyse

En raison des nombreuses sources d'incertitude liés aux protocoles d'analyse chimique, la validation de méthode fait partie intégrante du cycle de vie d'une méthode d'analyse (Figure 56). Elle doit permettre de fournir une réponse objective à la question suivante: « la méthode utilisée permet-elle vraiment de contrôler le phénomène étudié ? » (Feinberg 2001).

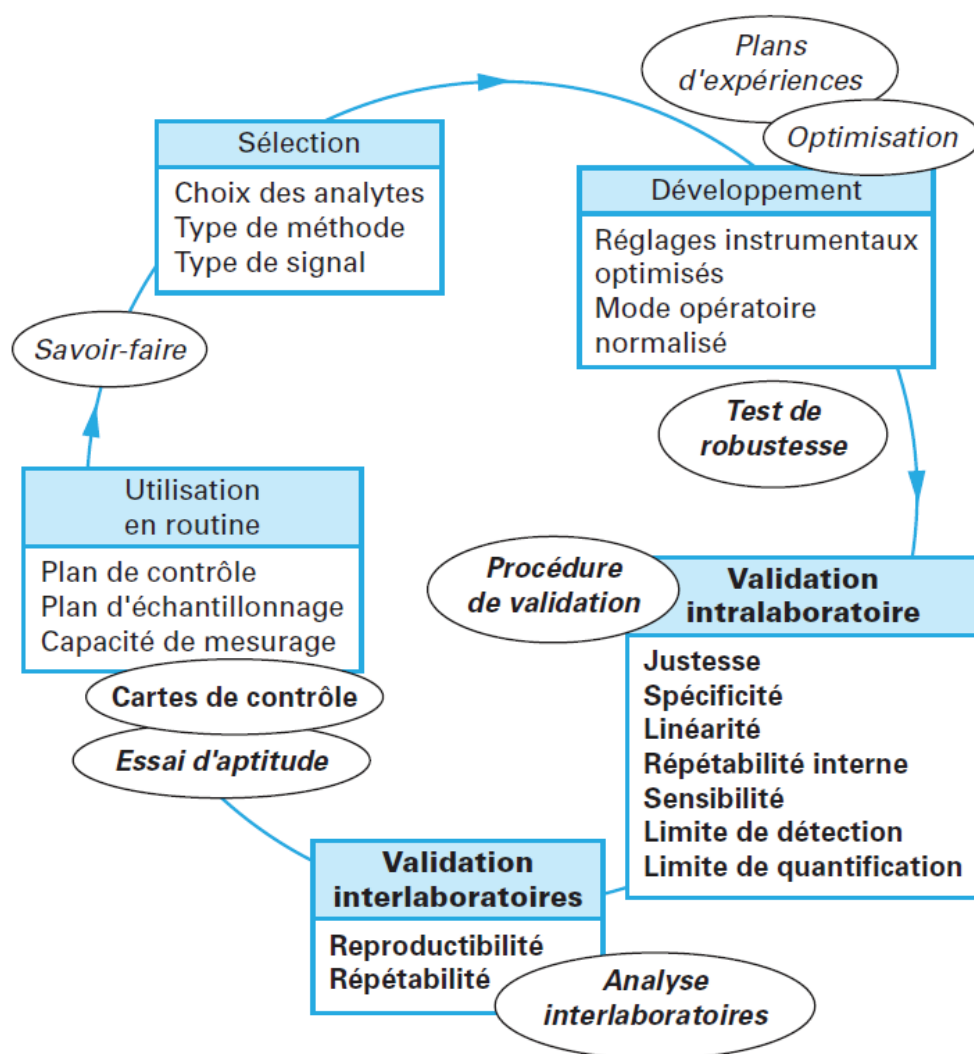


Figure 56: Cycle de vie d'une méthode d'analyse (Feinberg 2001)

En ce sens, elle doit permettre de cerner les limites de la méthode et son domaine d'application, afin d'en déduire les incertitudes sur les mesures. La méthode d'analyse optimisée a donc été évaluée en matière de sensibilité, linéarité, justesse, répétabilité et précision intermédiaire (inter jours), en prenant comme matrice de référence, l'eau Evian® conditionnée dans des bouteilles en verre.

Les limites de quantification (LQ) ont été déterminées en suivant la norme NF T90-210 (AFNOR 2009) et se situent entre 0,015 µg/L pour le LAS C10 et 0,485 µg/L pour le SDS. Conformément à notre objectif, toutes les LQ sont inférieures aux PNEC (Tableau 24). Seule celle du LAS C13 est proche de la PNEC. Une des contraintes spécifiques à ce composé est liée à l'utilisation d'un étalon contenant les 4 homologues de LAS. Comme la LQ du LAS C10 est déjà proche de la concentration dans les blancs, nous ne pouvions pas descendre plus bas en concentration. L'utilisation d'étalons individuels (qui existent depuis 2020) pourrait permettre d'abaisser ces LQ.

Tableau 24: PNEC, limites de quantification (LQ) méthode eaux de surface comparées à la littérature, concentrations des blancs méthode et rendements d'extraction

Molécule	PNEC (µg/L)	LQ méthode (µg/L)	LQ littérature (µg/L)	Référence	Concentration blanc méthode (µg/L)	Rendement d'extraction ^a (%) à 5*LQ
LAS C10	1	0,015	1,6	Freeling 2019	0,005	86,7
LAS C11	1	0,113	1,6	Freeling 2019	0,015	85,4
LAS C12	0,2	0,101	1,6	Freeling 2019	0,01	89,7
LAS C13	0,085	0,072	1,6	Freeling 2019	0,005	87,8
LAS C14	nd	0,12	1,6	Freeling 2019	S/N <10	78,2
C ₁₂ EO ₁ S	1	0,43	0,1	Freeling 2019	0,143	85,0
C ₁₂ EO ₂ S	1	0,34	0,1	Freeling 2019	0,113	82,0
SDS	65	0,485	0,5	Santos 2015	0,162	75,3
EHS	11	0,05	0,5	Santos 2015	0,002	88,2
OP ₇ EO	0,056	0,02	0,05	DeArmond 2013	0,0016	66,0
OP ₈ EO	0,056	0,02	0,05	DeArmond 2013	0,0016	64,3
OP ₉ EO	0,056	0,02	0,05	DeArmond 2013	0,0016	68,4
OP ₁₀ EO	0,056	0,02	0,05	DeArmond 2013	0,0016	55,8
OP ₁₁ EO	0,056	0,02	0,05	DeArmond 2013	0,0016	58,7
CMEA	1,35	0,1	0,07	Gonzales 2004	S/N <10	75,8
TMDD	16	0,1	0,03	Guedez 2010	0,01	78,3
BAC-C ₁₂	1	0,06	0,01	Ostman 2017	0,006	55,8
BAC-C ₁₄	1	0,04	0,01	Ostman 2017	0,01	42,5
DDAC-C ₁₀	0,2	0,05	0,005	Ostman 2017	0,01	45,7
LaurPyr	0,047	0,03	ND		S/N <10	48,6
TEAQ-C ₁₆	1	0,28	5,0	Bergé 2016	0,016	36,2
TEAQ-C ₁₈	0,5	0,152	ND		0,007	38,0
TEAQ-C ₁₈ sat.	0,5	0,06	ND		0,016	35,5
SADP-DMA	0,51	0,05	0,2	Bergé 2016	S/N <10	48,3
Cetylbetaïne	1	0,1	0,1	Bergé 2016	S/N <10	56,8

^aCalculé par le rapport entre les aires des matrices de références extraites, dopées avant et après extraction

Bien que notre méthode soit multi-familles, ce qui impose des compromis, les LQ obtenues sont comparables voire inférieures à celles de la littérature. Seules celles des ammonium quaternaires BAC-C₁₂ et C₁₄ et DDAC-C₁₀ sont supérieures à celles du travail d'Ostman et al. 2017 mais la méthode développée dans cet article était spécifique aux tensioactifs cationiques. Les rendements d'extraction sont supérieurs à 75% pour les tensioactifs anioniques, et se situent entre 56 et 78% pour les non-ioniques. Ils sont inférieurs pour les tensioactifs cationiques, entre 36 et 56%, comme observés dans une étude récente (Paijens et al. 2020). En particulier, les rendements d'extraction des TEAQ se situent entre 36 et 38%. Ceci peut s'expliquer par le fait que les TEAQ sont à la fois cationiques et hydrophobes et ne sont pas totalement élués des cartouches SPE.

Par ailleurs, aucun signal sur bruit n'est inférieur à 10 dans les blancs méthode, hormis pour 5 substances, LAS C14, CMEA, LaurPyr, SADP-DMA et cetylbétaïne. Les concentrations de ces contaminations sont très variables, allant de 1,6 ng/L pour les OPEO à 162 ng/L pour le SDS. Afin de se situer au-dessus de ce bruit de fond lors de l'analyse, les LQ ont été déterminées de manière à ce que les concentrations des blancs méthode soient inférieures à la LQ divisée par 2. Les Figure 57 et Figure 58 présentent les LQ/2 et les concentrations moyennes dans les blancs méthode pour les deux familles de tensioactifs les plus problématiques : les anioniques et les cationiques.

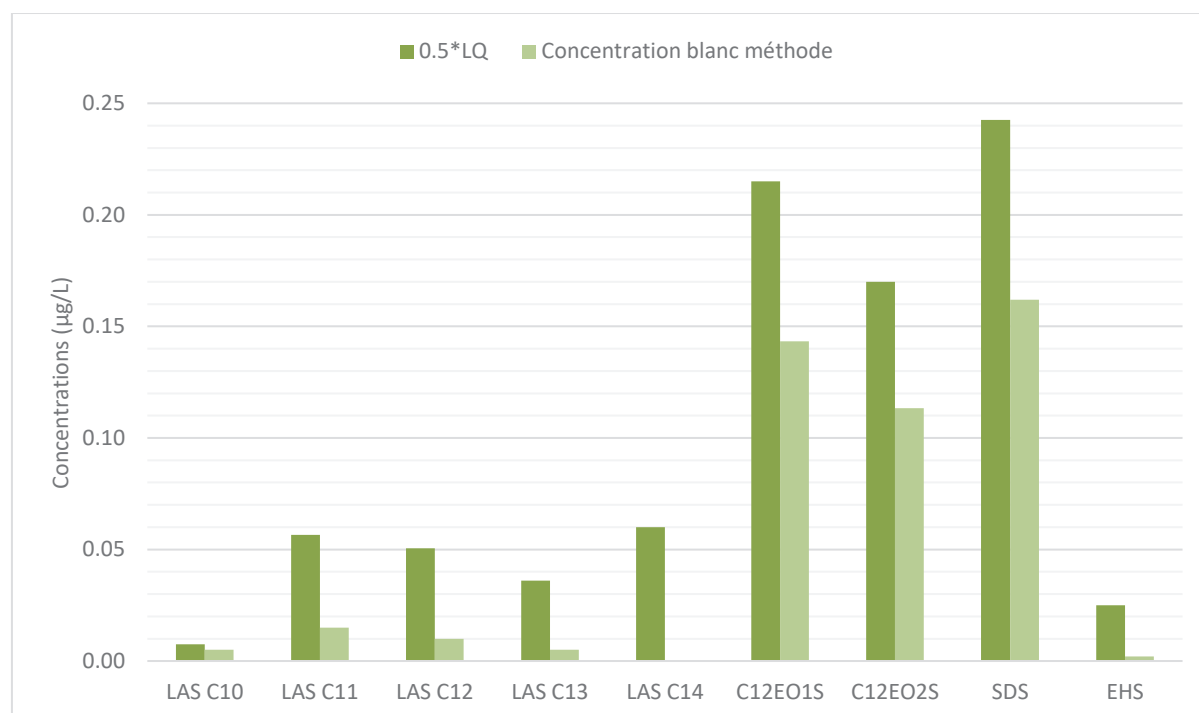


Figure 57: Comparaison des LQ divisées par 2 et des concentrations moyennes dans les blancs méthode (tensioactifs anioniques)

En ce qui concerne les anioniques, on observe que les molécules présentant les blancs les plus élevés sont le SDS et les laureth sulfate. Toutes les LQ/2 sont supérieures à 3 fois le niveau des blancs sauf pour le LAS C10. Dans le cas des cationiques, les concentrations dans les blancs sont bien inférieures à celles des anioniques et sont toujours inférieures à 20 ng/L. Les TEAQ sont les plus problématiques. Toutes les LQ/2 sont supérieures à 3 fois le niveau des blancs sauf pour le BAC-C₁₄, le DDAC-C₁₀ et le TEAQ-C_{18sat}.

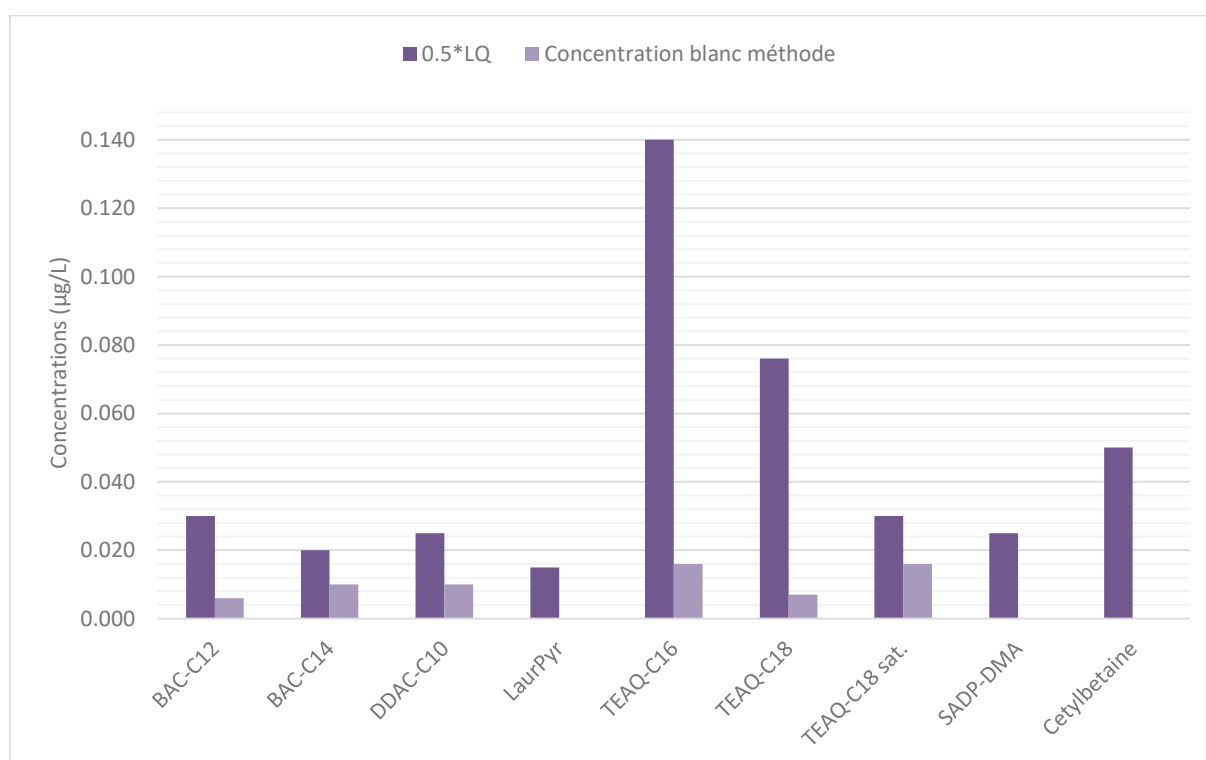


Figure 58: Comparaison des LQ divisées par 2 et des concentrations moyennes dans les blancs méthode (tensioactifs cationiques)

Compte-tenu de ces résultats en matière de rendements et de niveaux de contamination des blancs méthode, un étalonnage par calibration dans une matrice de référence a été choisi. Les étalons sont de l'eau Evian® (conditionnée dans des bouteilles en verre) dopée à différentes concentrations, qui a subi l'ensemble du protocole analytique. La même stratégie a été utilisée afin de déterminer le domaine de linéarité, les taux de recouvrement, la répétabilité et la précision intermédiaire, qui sont résumés dans le Tableau 25.

Tableau 25: Domaine de linéarité, taux de recouvrement, répétabilité et précision intermédiaire

Molécule	Domaine de linéarité (µg/L)	R ²	Taux de recouv. (%) à LQ (n=6)	Répétabilité CV (%) à LQ (n = 6)	Précision intermédiaire sur 3 jours CV (%) à LQ (n=6)	Taux de recouv. (%) à 10*LQ (n=6)	Répétabilité CV (%) à 10*LQ (n = 6)	Précision intermédiaire sur 3 jours CV (%) à 10*LQ (n=6)
LAS C10	0,015 - 0,15	0,998	103	15	18	113	9,8	8,3
LAS C11	0,113 - 1,13	0,999	97	12	31	116	8,4	7,0
LAS C12	0,101 - 1,01	0,997	117	16	14	103	8,6	9,7
LAS C13	0,072 - 0,72	0,990	98	8	17	86	15	17
LAS C14	0,12 - 1,2	0,990	101	10	28	120	9,6	11
C ₁₂ EO ₁ S	0,43 - 4,3	0,990	113	15	20	117	2,8	4,1
C ₁₂ EO ₂ S	0,34 - 3,4	0,990	85	18	20	81	3,6	4,3
SDS	0,485 - 4,85	0,990	114	20	26	80	3,6	7,6
EHS	0,05 - 0,5	0,996	107	19	26	96	2,7	2,8
OP ₇ EO	0,02 -0,2	0,995	106	15	18	107	5,7	5,3
OP ₈ EO	0,02 -0,2	0,995	115	13	22	103	8,2	6,8
OP ₉ EO	0,02 -0,2	0,995	113	12	20	115	7,3	5,6
OP ₁₀ EO	0,02 -0,2	0,993	120	12	21	110	7,3	6,2
OP ₁₁ EO	0,02 -0,2	0,996	120	12	21	88	7,7	6,9
CMEA	0,1 - 1,0	0,999	120	10	15	110	4,1	5,1
TMDD	0,1 - 0,6	0,998	103	12	18	115	4,5	17
BAC-C ₁₂	0,06 - 0,3	0,993	98	16	25	119	3,2	5,2
BAC-C ₁₄	0,04 - 0,4	0,994	88	17	25	111	3,2	7,0
DDAC-C ₁₀	0,05 - 0,5	0,990	112	12	28	109	5	14
LaurPyr	0,03 - 0,3	0,993	92	11	27	109	2,3	2,8
TEAQ-C ₁₆	0,28 - 1,4	0,993	92	15	15	87	22	27
TEAQ-C ₁₈	0,152 - 0,76	0,997	109	20	16	84	25	28
TEAQ-C ₁₈ s	0,06 - 0,3	0,990	103	18	23	82	17	29
SADP-DMA	0,05 - 0,25	0,991	99	14	21	115	21	26
Cetylbétaïne	0,1 - 1	0,999	105	10	18	101	4,9	6,0

Les coefficients de corrélation sont tous supérieurs à 0,99. Les taux de recouvrement ont été évalués au niveau de la LQ et à la LQ fois dix. Dans les deux cas, les taux de recouvrement sont supérieurs à 80%, ce qui montre que la calibration dans une matrice de référence permet de corriger efficacement les rendements plus faibles des tensioactifs cationiques. La répétabilité et la précision intermédiaire sur 3 jours ont également été évaluées à ces 2 niveaux de concentration. Les coefficients de variation (CV) sont respectivement entre 8 et 25% et entre 4 et 29% pour la répétabilité et la précision intermédiaire. Les TEAQ sont les composés qui présentent le plus de variabilité, ce qui peut avoir deux explications : des niveaux de contamination élevés et variables et des facteurs de réponse faibles en spectrométrie de masse. Dans l'ensemble, ces données de validation sont satisfaisantes.

1.4- Etude de stabilité

Les risques d'altération d'un échantillon sont très nombreuses du prélèvement à l'analyse (Figure 59).

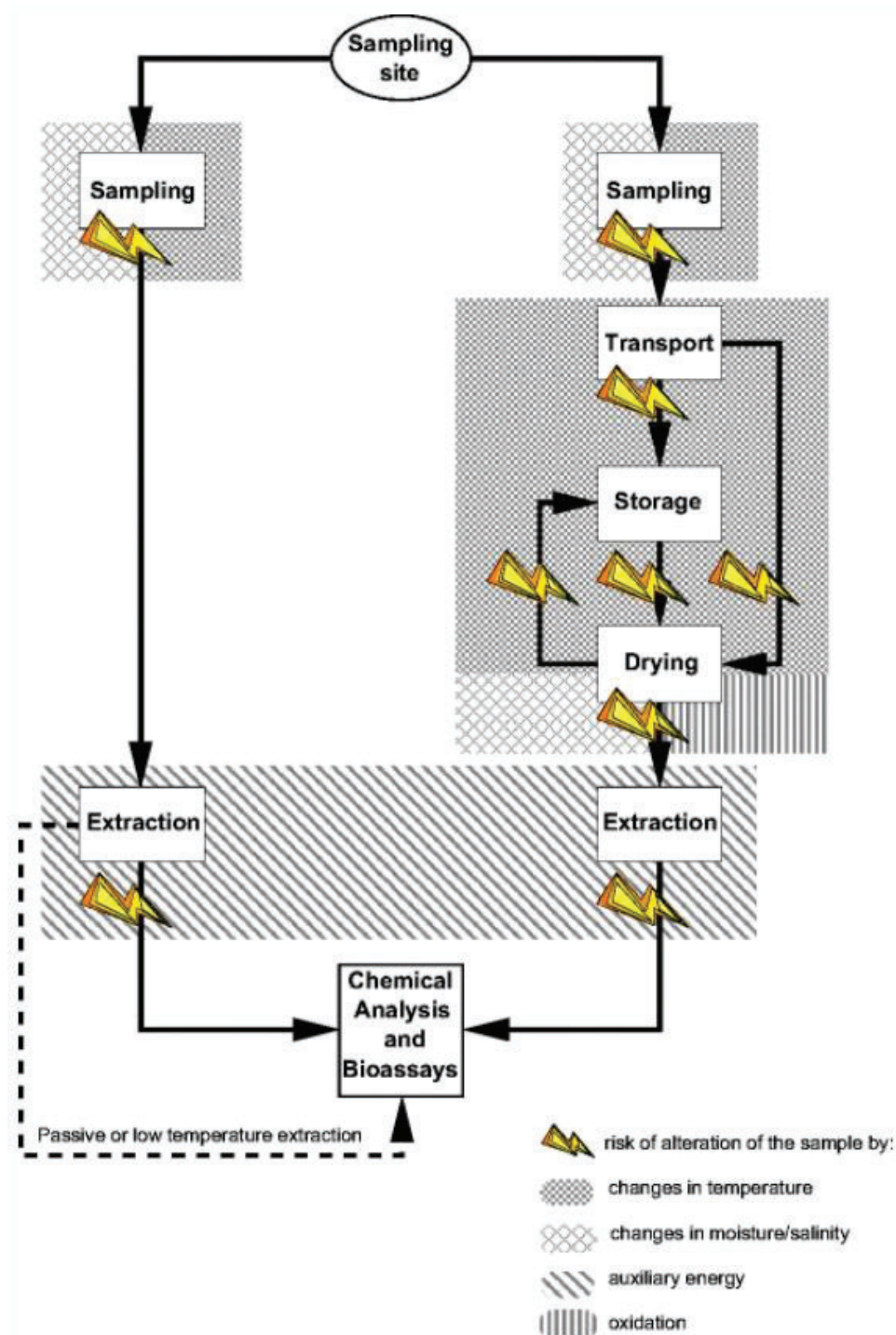


Figure 59: Schéma des altérations possibles de l'échantillon liées aux différentes étapes d'un processus analytique (Seiler et al. 2008)

En particulier, une température élevée pendant le transport des échantillons peut entraîner la dégradation des composés d'intérêt. De plus, dans le cadre de la campagne EMNAT, des échantillons prélevés dans les départements d'outre-mer peuvent mettre plus de 3 jours à être livrés. Afin de déterminer les conséquences de ce stockage, une étude de stabilité a été réalisée à 4 et 12°C, sur 7 jours.

Plus précisément, la méthode d'évaluation de la stabilité utilisée est basée sur le document de Lardy-Fontan et Lalere (2006). Nous avons suivi une approche pseudo-isochrone type 2, sur 7 jours, à un niveau de concentration correspondant à 10 fois la limite de quantification (LQ) de chaque substance. La matrice utilisée est donc de l'eau de source (bouteille en verre Evian®) dopée à 10*LQ. Tous les échantillons ont été préparés dans des flacons en verre préalablement calcinés 15 heures, à 450°C. Le plan expérimental est le suivant :

- J0, préparation de 18 échantillons à 10*LQ, et extraction de 6 de ces échantillons
- J1, 3 des échantillons préparés à J0 ont été extraits
- J2, 3 des échantillons préparés à J0 ont été extraits
- J3, 3 des échantillons préparés à J0 ont été extraits
- J7, les 3 derniers échantillons préparés à J0 ont été extraits

Pour 4°C, les échantillons ont été stockés au réfrigérateur, à l'abri de la lumière. Pour 12°C, les échantillons ont été stockés recouverts d'aluminium, dans un banc d'exposition à une température contrôlée de 12°C.

De J0 à J7, tous les extraits ont été conservés à sec, à -20°C. Enfin, tous les extraits ont été repris et analysés le même jour, ce qui permet d'éliminer toute variabilité liée à une analyse des échantillons à des jours différents.

Pour chaque famille de tensioactif, les Figure 60 à Figure 64 représentent les moyennes des réplicats, ainsi que leurs écart-types. Pour les points inférieurs à la LQ, la valeur de LQ/2 a été prise.

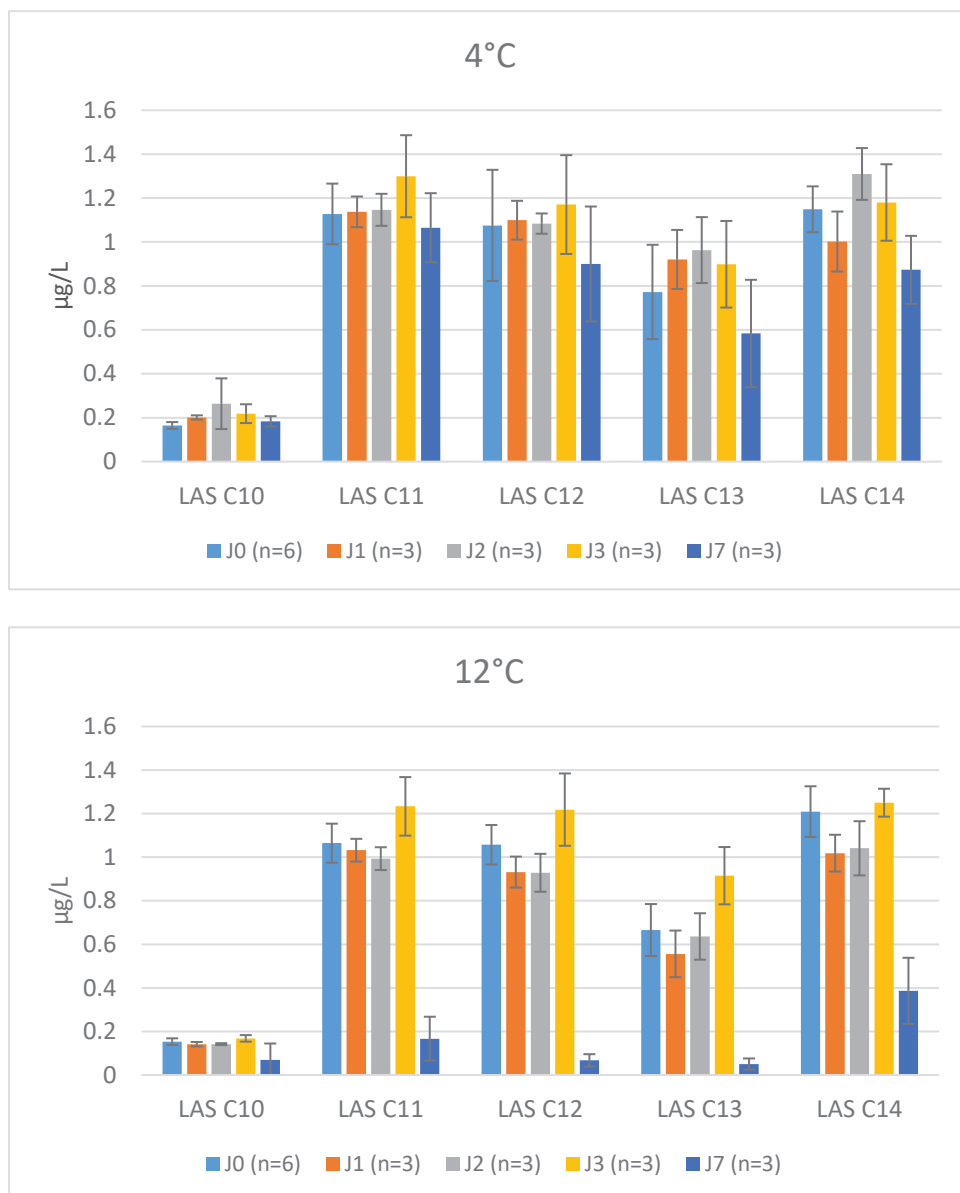


Figure 60: Suivi de la concentration des LAS à 4 et 12°C, sur 7 jours

Les concentrations sont stables pour les 5 homologues jusqu'à 3 jours à 4°C et 12°C. Au bout de 7 jours à 4°C, on constate une faible perte des LAS C12, C13 et C14., les concentrations en LAS C10 et C11 restent stables. Ceci peut s'expliquer par le fait que les LAS C12 à C14 peuvent se dégrader en LAS C10 et C11 par clivage successif de la chaîne alkyle (Mungray & Kumar 2009) et ainsi compenser la diminution de leurs concentrations. Ces observations sont cohérentes avec l'étude de Li et al. 2020 dans laquelle la stabilité a été étudiée sur 7 jours à 4°C. Les concentrations des LAS C12 et C13 diminuaient au bout de 7 jours. L'acidification de l'échantillon a pH 2,5 a permis d'augmenter la durée de stabilité à 7 jours.

A 12°C, les concentrations en LAS sont stables jusqu'à 3 jours. Au bout de 7 jours, la diminution des concentrations est très nette, avec des réponses inférieures à la LQ pour les LAS C12 et C13.



Figure 61: Suivi de la concentration des alkyl et alkyl éther sulfates à 4 et 12°C, sur 7 jours

Les concentrations sont stables pour les 4 lauryl éther et alkyl sulfates jusqu'à 7 jours à 4°C. On constate tout de même une augmentation de la variabilité à J7 pour le 1-laureth sulfate et le SDS. A 12°C, seules les concentrations du EHS sont stables jusqu'à 7 jours. Dès le 2^{ème} jour, la diminution de la concentration en SDS est significative. Au bout de 3 jours, on observe une

faible perte des laureth sulfates. Au bout de 7 jours, les concentrations sont inférieures à la limite de quantification.

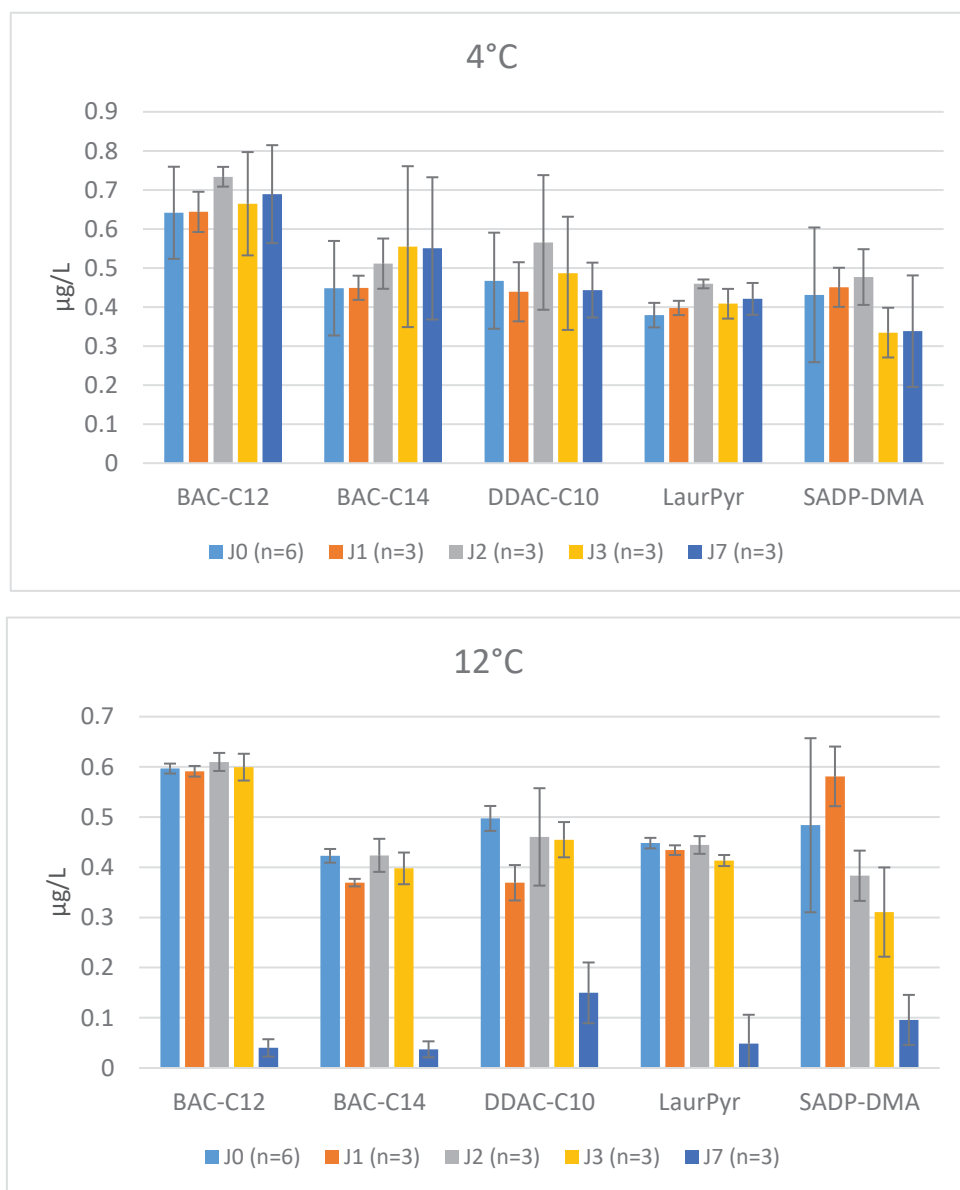


Figure 62: Suivi de la concentration des tensioactifs cationiques à 4 et 12°C, sur 7 jours

Les concentrations sont stables pour ces 4 tensioactifs cationiques jusqu'à 7 jours à 4°C. Ceci est cohérent avec l'étude de Li et al. 2020, dans laquelle la stabilité du BAC-C₁₂ à 4°C sur 7 jours, a été étudiée. Cependant, à 12°C, les concentrations sont stables mais seulement jusqu'à 3 jours. Au bout de 7 jours, on observe une nette diminution et les concentrations en BAC-C₁₂, C₁₄ et lauryl pyridinium sont inférieures à la limite de quantification. Enfin, en ce qui concerne le SADP-DMA, la concentration diminue à 3 jours et se situe juste au-dessus de la limite de quantification à 7 jours.

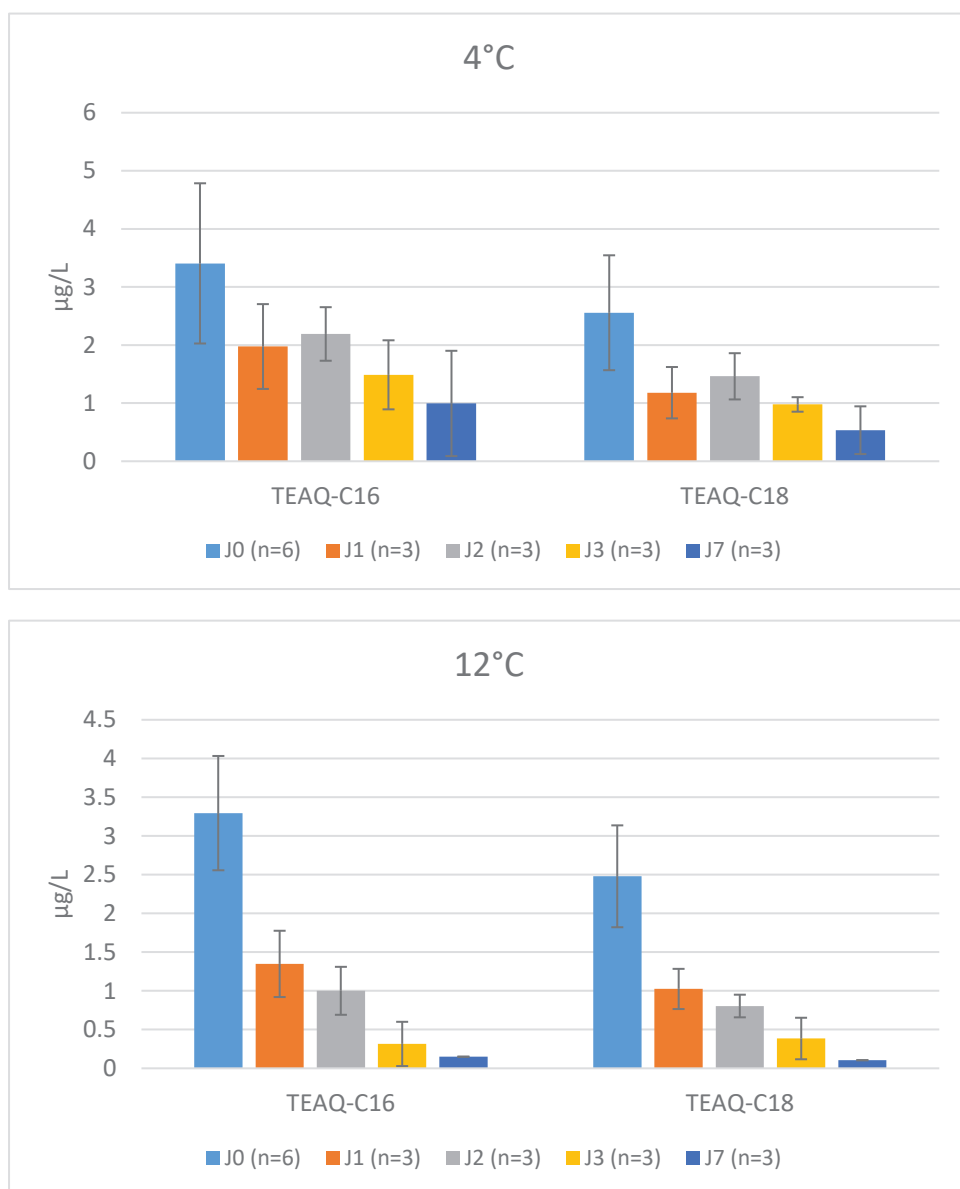


Figure 63: Suivi de la concentration des TEAQ à 4 et 12°C, sur 7 jours (TEAQ C18 = TEAQ C18+TEAQ C18 sat)

Les concentrations en TEAQ ne sont stables ni à 4°C, ni à 12 °C. A 4°C, au bout de 24h, on constate déjà une baisse de 30% de la concentration, puis la concentration reste stable jusqu'à 3 jours. Au bout de 7 jours, il ne reste plus que 20% de la concentration initiale.

A 12°C, la diminution est encore plus forte au bout de 24h. Elle continue à baisser à 48h et 3 jours. Enfin, au bout de 7 jours, les concentrations sont inférieures à la limite de quantification. Deux phénomènes peuvent expliquer ces observations : la dégradation, mais également l'adsorption, les TEAQ étant des composés à la fois cationiques et hydrophobes.

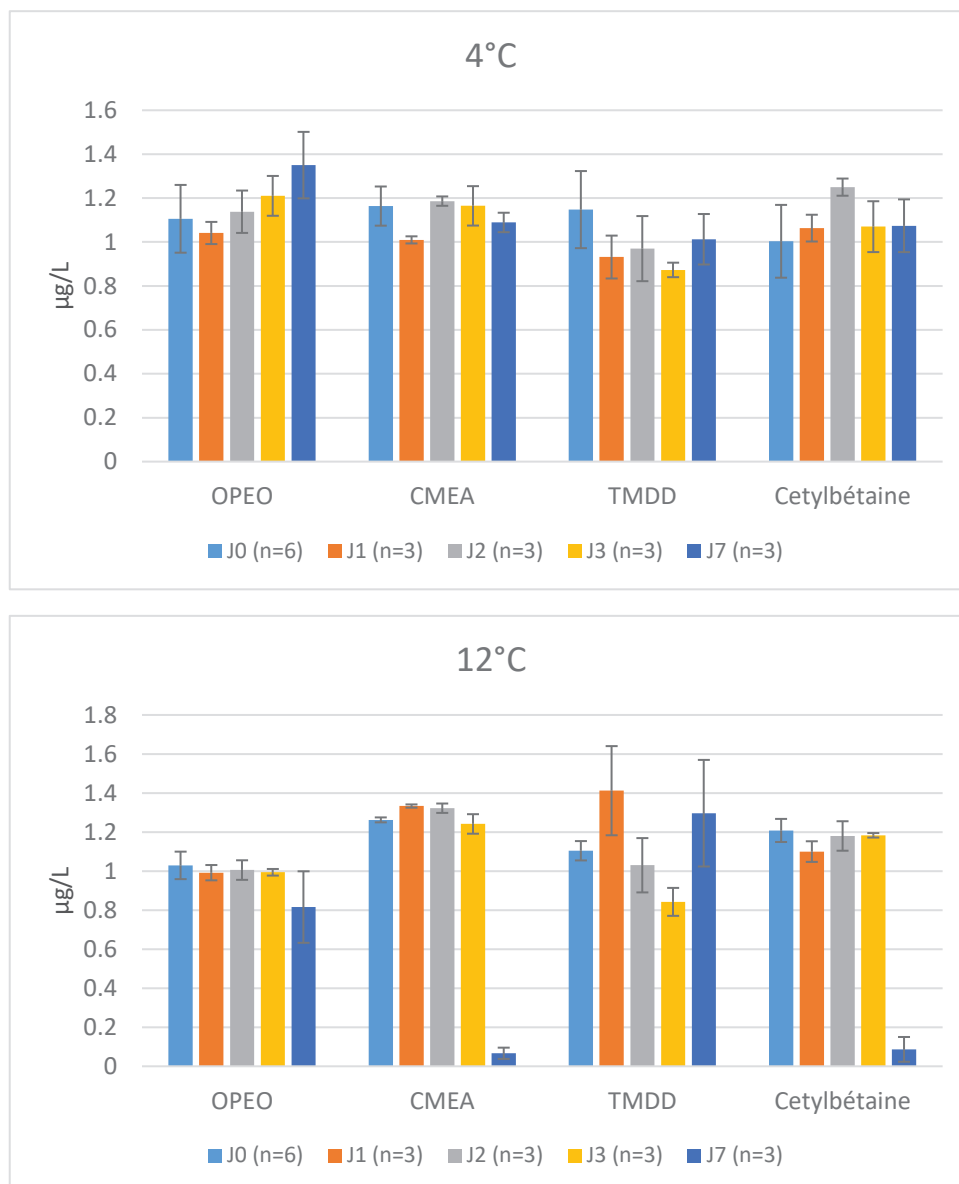


Figure 64: Suivi de la concentration des tensioactifs non-ioniques et zwitterioniques à 4 et 12°C, sur 7 jours (OPEO= somme des $OP_{7-11}EO$)

Les concentrations sont stables pour ces 5 substances jusqu'à 7 jours à 4°C. Ces résultats sont cohérents avec l'étude de DeArmond & DiGoregorio 2013 dans laquelle la stabilité des OPEO à 4°C a été évaluée sur 28 jours. Au bout de 28 jours, moins de 10% des OPEO avaient été dégradés. A 12°C, les concentrations en OPEO et TMDD sont stables jusqu'à 7 jours, avec une faible diminution de la concentration en OPEO au bout de 7 jours. Les concentrations en CMEA et cetyl-betaïne sont stables jusqu'à 3 jours et au bout de 7 jours, elles sont inférieures à la limite de quantification.

En conclusion, la stabilité des tensioactifs étudiés est très variable selon les composés. Les TEAQ ne sont stables ni à 4°C, ni à 12°C. Hormis ces derniers, à 4°C, la majorité sont stables jusqu'à 7 jours. Seuls les LAS C12, C13 et C14 ne sont stables que jusqu'à 3 jours. A 12°C, seules les concentrations en OPEO, TMDD et EHS sont stables jusqu'à 7 jours. Les concentrations en 11 substances (5 LAS, BAC-C₁₂ et C₁₄, DDAC-C₁₀, lauryl pyridinium, CMEA et cetylbétaïne) sont stables jusqu'à 3 jours. Enfin les concentrations en laureth sulfates et SADP-DMA sont stables jusqu'à 48h, et en SDS jusqu'à 24h. Ces observations révèlent l'importance d'une température de transport à 4°C, d'une durée de livraison inférieure à 7 jours et du traitement de l'échantillon dès sa réception.

2- Sédiment

2.1- Mise au point de l'étape d'extraction

2.1.1- Sensibilité à atteindre

Pour rappel, comme dans le cas des eaux, le 1^{er} objectif que nous nous sommes fixés et de développer une méthode qui permet d'extraire les 27 substances ciblées en un minimum d'étapes et, si possible en une seule étape. Le 2nd est d'obtenir une sensibilité pertinente par rapport à l'objectif de la campagne « Emergents Nationaux 2018 » (EMNAT), c'est-à-dire évaluer les concentrations de polluants émergents dans les sédiments de rivière mais également leur potentiel impact écotoxicologique. Pour cela, il est nécessaire que les limites quantification soient inférieures aux PNEC.

Le Tableau 26 résume les PNEC et limites de quantification (LQ) retrouvées dans la littérature. Les PNEC sont très variables d'un composé à l'autre et ont des valeurs comprises entre 1 pour les TEAQ et 13587 µg/kg pour les BAC. Les LQ de la littérature se situent entre 0,6 et 50 µg/kg. Pour la majorité des substances ciblées, les LQ sont inférieures aux PNEC. Par contre, avec des PNEC inférieures à 10 µg/kg, une sensibilité suffisante risque d'être difficile à atteindre pour les TEAQ, les OPEO et les laureth sulfate.

Tableau 26: PNEC et LQ dans les matrices solides environnementales retrouvées dans la littérature

Nom	PNEC ^a (µg/kg)	LQ littérature (µg/kg)	Référence
TEAQ-C ₁₈	1	ND	
TEAQ-C ₁₈ sat.	1	ND	
TEAQ-C ₁₆	2	ND	
OP ₇ EO	2,4	9	Loyo-Rosales et al. 2003
OP ₈ EO	2,4	9	Loyo-Rosales et al. 2003
OP ₉ EO	2,4	9	Loyo-Rosales et al. 2003
OP ₁₀ EO	2,4	9	Loyo-Rosales et al. 2003
OP ₁₁ EO	2,4	9	Loyo-Rosales et al. 2003
C ₁₂ EO ₁ S	8	1 (estim.)	Sanderson et al. 2006b
C ₁₂ EO ₂ S	8	1 (estim.)	Sanderson et al. 2006b
CMEA	18	ND	
TMDD	59	ND	
LAS C13	98	2,7	Lara-Martin et al. 2011
LAS C12	124	15	Lara-Martin et al. 2011
EHS	165	ND	
LAS C10	188	9,3	Lara-Martin et al. 2011
LaurPyr	312	ND	
LAS C11	341	27	Lara-Martin et al. 2011
Cetylbétaïne	353	ND	
SDS	1131	50	Abril et al. 2018
BAC-C ₁₆	1949	0,7	Martinez-Carballo et al. 2007b
BAC-C ₁₈	1949	2	Martinez-Carballo et al. 2007b
DDAC-C ₁₀	4848	0,6	Martinez-Carballo et al. 2007b
SADP-DMA	5339	ND	
BAC-C ₁₂	13587	1	Martinez-Carballo et al. 2007b
BAC-C ₁₄	13587	1	Martinez-Carballo et al. 2007b
LAS C14	ND	ND	

^aINERIS 2020

ND: non déterminé

2.1.2- Protocoles testés

Afin de réussir à extraire les composés ciblés en un minimum d'étapes, la technique d'extraction utilisée doit être la plus universelle possible. Parmi celles retrouvées dans la littérature (Tableau 13), notre choix s'est portée sur deux types d'extractions, assez simples à mettre en œuvre et peu consommatrices de solvant : l'extraction solide-liquide assistée par les sels et vortex (ESL sels/vortex) et l'extraction assistée par ultrasons (UAE).

Le protocole d'ESL sels/vortex est basé sur les travaux de Bergé et al. 2016. Ce protocole a été adapté de la 1^{ère} étape de la méthode QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe), préalablement mise au point pour l'extraction des pesticides dans les fruits et légumes mais qui depuis a été adaptée à de nombreux analytes et matrices (Gonzalez-Curbelo et al. 2015). Il consiste en une double extraction solide-liquide assistée par les sels, une première à pH 5 et la seconde à pH acide. 500 mg de sédiment sont introduits dans un tube de centrifugation en polypropylène de 50 mL, dans lequel sont ajoutés un barreau céramique d'homogénéisation, 10 mL d'ACN et 6 mL d'eau LC-MS. Après un passage de 20 secondes au vortex, 3 mL d'heptane sont ajoutés. Puis, après un passage de 40 secondes au vortex, le tampon citrate, composé de 4 g de MgSO₄ anhydre, 1 g de citrate de sodium, 0,5 g de sel citrique disodique sesquihydraté et 1 g de NaCl, est introduit dans le tube qui est immédiatement agité manuellement 20 secondes puis 40 secondes au vortex. Après centrifugation à 10 000 tr/min pendant 5 min, 4 mL de surnageant est prélevé dans un tube en verre de 12 mL. 0,5 mL d'acide sulfurique est alors ajouté au 1^{er} tube d'extraction, qui est à nouveau agité manuellement 20 secondes puis 40 secondes au vortex, et enfin centrifugé à 10 000 tr/min pendant 5 min. 4 mL de surnageant est prélevé et ajouté au 1^{er} surnageant. Les extraits sont évaporés à sec sous azote à 40°C puis repris dans 1 mL d'un mélange acétonitrile/eau Evian®/NH₄OH à 25% 30/65/5.

Le protocole UAE a été adapté de la méthode mise au point par Gago-Ferrero et al. 2015. Il consiste également en une double extraction UAE avec ou sans présence d'éthylènediaminetétraacétique (EDTA), qui permet d'éviter la complexation des molécules cationiques. 500 mg de sédiments sont prélevés dans un tube en verre de 12 mL, préalablement calciné à 450°C pendant 15h. 3 mL d'une solution de solvant organique ou un mélange 90/10 solvant organique et solution aqueuse à 0,1 M d'EDTA sont ajoutés. Le tube est alors passé au vortex 15 secondes, aux ultrasons 15 minutes à 50°C puis centrifugé 10 minutes à 5000 tr/min. Le surnageant est prélevé, puis le reliquat est de nouveau extrait avec 3 mL du même solvant que précédemment, passé au vortex 15 secondes, aux ultrasons 15 minutes à 50°C puis centrifugé 10 minutes à 5000 tr/min. Les deux surnageants sont combinés dans un seul tube en verre, évaporés à sec sous flux d'azote à 40°C puis repris avec 1 mL d'un mélange acétonitrile/eau Evian®/NH₄OH à 25% 30/65/5. Le tube est vortexé 15 secondes, puis passé 10 minutes aux ultrasons, et 5 minutes à la centrifugeuse à 5000 tr/min. Enfin, le surnageant est prélevé dans un vial pour injection. Cinq solvants d'extraction composés de méthanol ou acétonitrile ont été testés :

- Méthanol (MeOH) 100%
- Méthanol à 1% d'acide formique (AF)
- 90/10 méthanol/eau à 0,1 M EDTA
- Acétonitrile (ACN) 100%
- 90/10 acétonitrile à 1% d'acide acétique (AA)/eau à 0,1 M EDTA

2.1.3- Contamination des blancs

Compte-tenu des problèmes de contamination constatés lors de la mise au point de l'analyse des eaux de surface, dans un premier temps, des blancs de méthode issus des différents protocoles ci-dessus ont été réalisés. Pour ces essais, la matrice de référence utilisée était du sable de Fontainebleau calciné à 450°C pendant 15h.

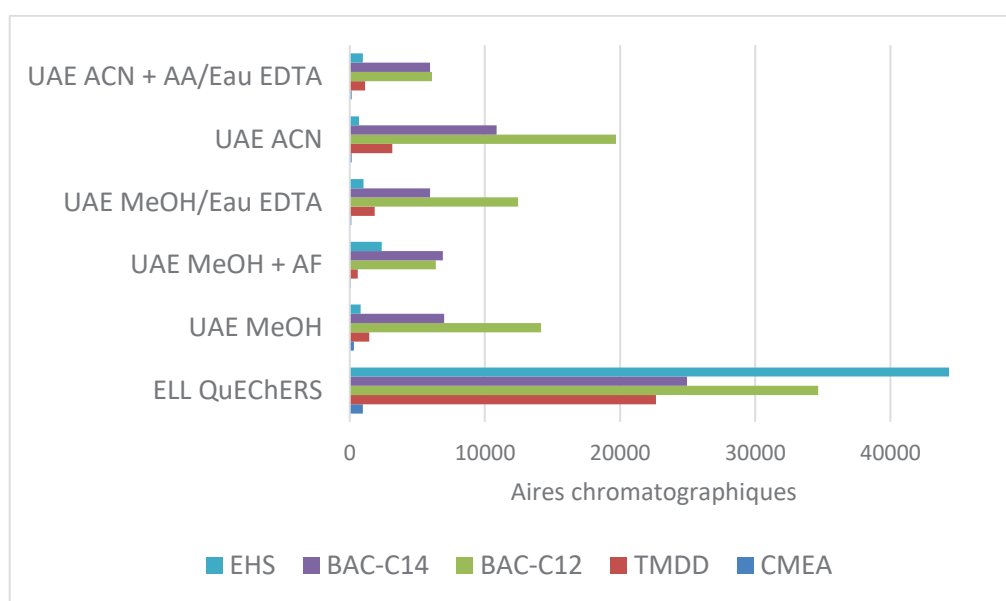


Figure 65: Blancs méthode des protocoles testés pour l'extraction des sédiments

Les aires des composés présentant des contaminations dans les blancs méthode sont présentées dans la Figure 65. Deux tensioactifs cationiques, BAC-C₁₂ et C₁₄, un anionique, l'EHS et deux non-ioniques, TMDD et CMEA présentent des contaminations, en particulier lors de l'utilisation du protocole d'extraction solide-liquide assistée par les sels et vortex. Des expériences supplémentaires ont permis de déterminer que ces contaminations provenaient à la

fois des tubes en polypropylène et des tampons citrate, qui sont prêts à l'emploi et conditionnés dans des sachets d'aluminium.

2.1.4- Efficacité d'extraction

Dans un second temps, afin de comparer les efficacités d'extraction obtenues avec les différents protocoles, des échantillons de sable de Fontainebleau calcinés dopés ont été préparés de la façon suivante : 100 μ L d'une solution à environ 500 μ g/L de tous les composés ciblés ont été ajoutés à 500 mg de sable. Le dopage des matrices solides constitue une grande source d'incertitude (Michael et al. 2017). En effet, le dopage permet de calculer les rendements d'extraction qui doivent être similaires aux échantillons réels. Or, dans les échantillons réels, les temps de contact entre les composés et la matrice peuvent être très longs, impliquant des interactions très fortes entre la matrice et les analytes. Pour cette raison, avant extraction, un temps de contact d'une nuit a été observé de la manière suivant : le tube contenant l'échantillon dopé a été passé au vortex 30 secondes, puis le solvant ajouté a été évaporé sous azote, sous hotte pendant une nuit.

La Figure 66 présente la comparaison des aires des pics chromatographiques obtenues pour les tensioactifs anioniques. Pour l'ensemble de ces composés, le protocole ESL sels/vortex donne les moins bonnes performances. En ce qui concerne l'UAE avec 100% de solvant organique, le MeOH est le meilleur solvant pour les LAS, tandis que c'est l'ACN pour les alkyl et alkyl éther sulfates. L'ajout d'AF et/ou d'EDTA permet d'améliorer les rendements de l'ensemble des tensioactifs anioniques. L'amélioration de l'efficacité d'extraction grâce à l'ajout d'EDTA a récemment été observée, notamment en ce qui concerne des substances pharmaceutiques (Gago-Ferrero et al. 2015) et des pesticides polaires (Chamkasem & Harmon 2016), mais, à notre connaissance, n'avait jamais été testée auparavant pour l'extraction des tensioactifs. Plus précisément, c'est le mélange 90/10 acétonitrile à 1% d'acide acétique (AA)/eau à 0,1 M EDTA, qui donne les meilleures performances.

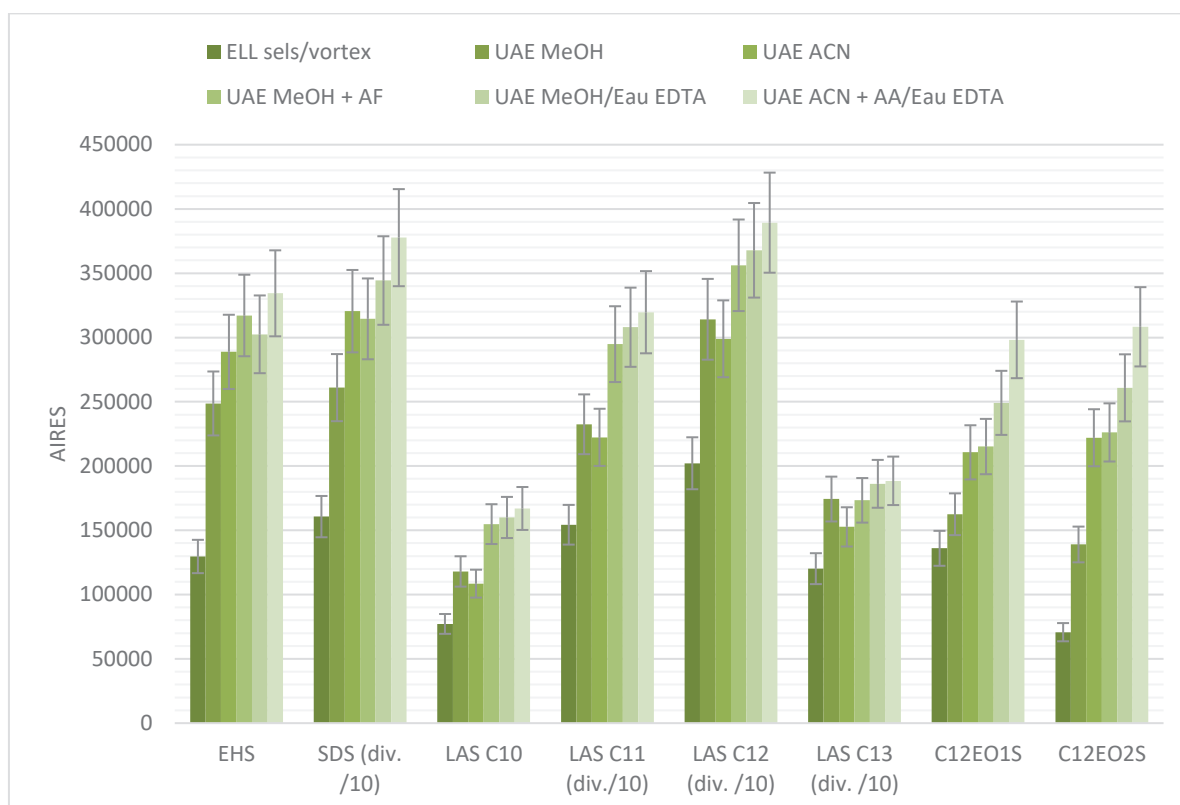


Figure 66: Aires des tensioactifs anioniques des extraits de sable de Fontainebleau dopés en fonction des types et/ou solvants d'extractions

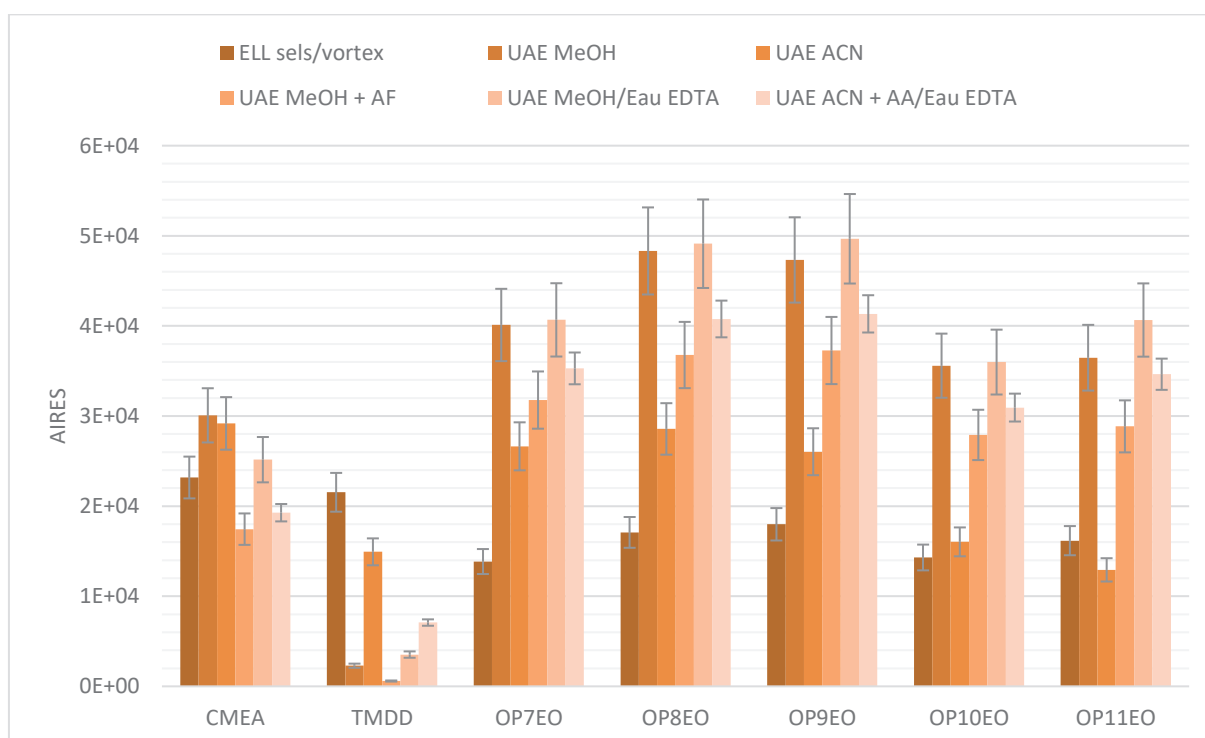


Figure 67: Aires des tensioactifs non-ioniques des extraits de sable de Fontainebleau dopés en fonction des types et/ou solvants d'extractions

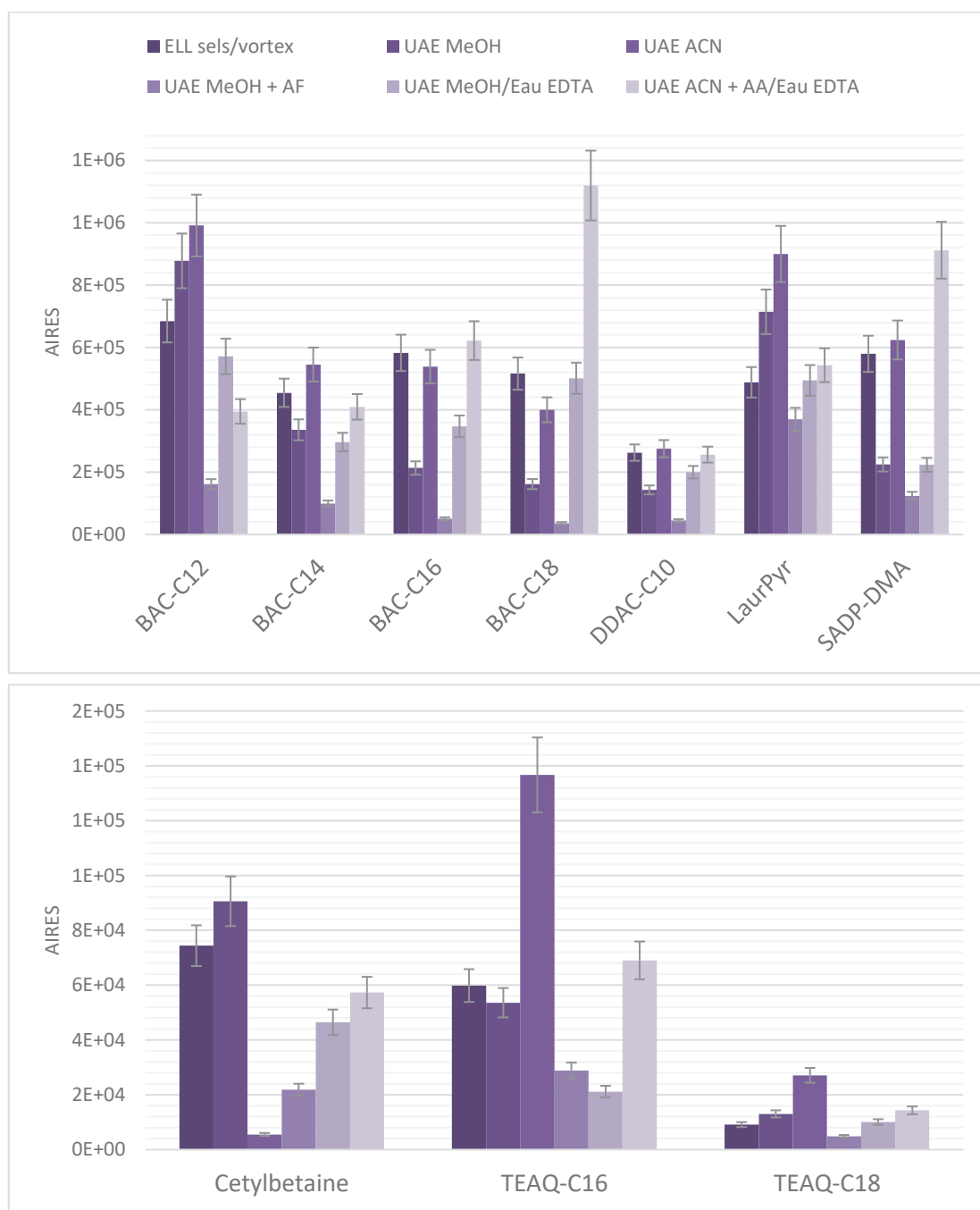


Figure 68: Aires des extraits de sable de Fontainebleau dopés des tensioactifs cationiques en fonction des types et/ou solvants d'extractions

La Figure 67 présente les aires obtenues pour les tensioactifs non-ioniques. Les tendances pour ces trois familles de composés sont différentes. En ce qui concerne le CMEA, c'est la technique UAE avec un solvant 100% organique, MeOH ou ACN, qui donne les meilleures performances. Pour le TMDD, c'est l'ESL sels/vortex et l'UAE avec 100% d'acétonitrile. Enfin, concernant

les OPEO, la technique UAE avec 100% méthanol ou méthanol et EDTA qui est la plus performante.

Les aires obtenues pour les tensioactifs cationiques sont résumées dans la Figure 68. L'UAE avec méthanol et acide formique est la condition la moins favorable à l'extraction des tensioactifs cationiques. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'un pH acide induit la déprotonation des tensioactifs cationiques, ce qui les rend moins solubles dans 100% de méthanol. Les trois conditions donnant les meilleures performances pour la majorité des composés sont les suivantes : ESL sels/vortex et UAE avec 100% d'acétonitrile et le mélange 90/10 acétonitrile à 1% d'acide acétique (AA)/eau à 0,1 M EDTA. Cependant, les conditions les plus favorables pour extraire BAC-C₁₂ et LaurPyr sont l'UAE avec 100% de solvant organique, méthanol ou acétonitrile. La différence entre le BAC-C₁₂ et ses homologues en C₁₄, C₁₆ et C₁₈ peut provenir de son caractère moins hydrophobe, ce qui le rend plus soluble dans le méthanol. Enfin, en ce qui concerne la cetylbétaïne, c'est l'UAE avec 100% de méthanol, suivie de l'ESL sels/vortex qui donne les meilleures performances.

En conclusion, hormis pour les tensioactifs anioniques, aucune condition d'extraction n'est optimale pour toutes les substances ciblées. Cependant, l'UAE avec le mélange 90/10 acétonitrile à 1% d'acide acétique (AA)/eau à 0,1 M EDTA donne globalement les meilleurs résultats et c'est donc celle-ci qui sera conservée dans la suite de l'étude.

2.2- Validation intralaboratoire de la méthode d'analyse

La méthode d'analyse optimisée a été évaluée en matière de sensibilité, linéarité, justesse, répétabilité et précision intermédiaire (inter jours), en prenant comme matrice de référence, du sable de Fontainebleau calciné à 450°C pendant 15h.

Les limites de quantification (LQ) ont été déterminées selon la norme NF T90-210 (AFNOR 2009) et se situent entre 6,4 µg/kg pour le LAS C10 et 158 µg/kg pour le 1-laureth sulfate (Tableau 27). Comparées à celles de la littérature, les limites de quantification de notre méthode sont du même ordre de grandeur ou supérieures. Cependant, les méthodes figurant dans les articles cités ne sont pas multi-familles. Concernant la méthode développée par Sanderson (Sanderson 2006b), la prise d'essai était de 35 g, contre 500 mg dans notre méthode, et les limites de quantification avaient seulement été estimées et non pas validées.

Tableau 27: PNEC, limites de quantification (LQ) méthode sédiments comparées à la littérature, concentrations des blancs méthode et rendements d'extraction

Nom	PNEC (µg/kg)	LQ méthode (µg/kg)	LQ littérature (µg/kg)	Référence	Concentration blanc méthode (µg/kg)	Rendement d'extraction ^a (%) à 5*LQ
LAS C10	188	6.4	9.3	Lara-Martin 2011	1.6	83.7
LAS C11	341	49	27	Lara-Martin 2011	16	98.5
LAS C12	124	44	15	Lara-Martin 2011	20	97.6
LAS C13	98	31	2.7	Lara-Martin 2011	14	97.4
LAS C14	ND	32	ND		S/N <10	97.5
C ₁₂ EO ₁ S	8	158	1 (estim.)	Sanderson 2006b	16	117.6
C ₁₂ EO ₂ S	8	124	1 (estim.)	Sanderson 2006b	12	109.9
SDS	1131	123	50	Abril 2018	31	97.8
EHS	165	11	ND		S/N <10	103.0
OP ₇ EO	2.4	9.6	9	Loyo-Rosales 2003	S/N <10	111.3
OP ₈ EO	2.4	9.6	9	Loyo-Rosales 2003	S/N <10	119.1
OP ₉ EO	2.4	9.6	9	Loyo-Rosales 2003	S/N <10	117.2
OP ₁₀ EO	2.4	9.6	9	Loyo-Rosales 2003	S/N <10	107.8
OP ₁₁ EO	2.4	9.6	9	Loyo-Rosales 2003	S/N <10	113.7
CMEA	18	13	ND		S/N <10	107.6
TMDD	59	42	ND		S/N <10	113.6
BAC-C ₁₂	13587	27	1	Martinez-Carballo 2007b	2.7	120.8
BAC-C ₁₄	13587	18	1	Martinez-Carballo 2007b	3.0	112.7
BAC-C ₁₆	1949	28	0.7	Martinez-Carballo 2007b	S/N <10	111.0
BAC-C ₁₈	1949	34	2	Martinez-Carballo 2007b	S/N <10	113.1
DDAC-C ₁₀	4848	40	0.6	Martinez-Carballo 2007b	15	109.1
LaurPyr	312	105	ND		S/N <10	118.0
TEAQ-C ₁₆	2	59	ND		22	55.7
TEAQ-C ₁₈	1	32	ND		12	22.1
TEAQ-C ₁₈ sat.	1	12	ND		4.0	94.4
SADP-DMA	5339	39	ND		S/N <10	79.0
Cetylbetaine	353	21	ND		S/N <10	98.1

^aCalculé par le rapport entre les aires des matrices de références extraites, dopées avant et après extraction

Par rapport aux PNEC, la majorité des LQ sont inférieures ou du même ordre de grandeur. Trois familles de tensioactifs présentent des LQ supérieures aux PNEC : les TEAQ, les OPEO et les laureth sulfate. Ces LQ assez élevées s'expliquent par la présence de ces composés dans les blancs méthode pour les laureth sulfate, un manque de sensibilité pour les OPEO et les deux, pour les TEAQ. De plus, les rendements des TEAQ se situent entre 22% pour le TEAQ-C₁₈ et 64% pour le TEAQ-C₁₈ sat. Hormis pour ces derniers, tous les rendements d'extraction sont supérieurs à 79%. Le développement de méthodes spécifiques pour les TEAQ, les OPEO et les laureth sulfate pourrait probablement permettre d'atteindre des LQ plus proches des PNEC.

Par ailleurs, 13 substances sur les 27 ciblées présentent un signal sur bruit supérieur à 10 dans les blancs méthode : les LAS C10 à C13, les laureth sulfate, le SDS, les BAC-C₁₂ et C₁₄, le DDAC-C₁₀ et les TEAQ. Les concentrations de ces contaminations sont très variables, allant de 1,6 µg/kg pour le LAS C10 à 31 µg/kg pour le SDS. Afin de se situer au-dessus de ce bruit de fond lors de l'analyse, les LQ ont été déterminés de manière à ce que les concentrations des blancs méthode soient inférieures à la LQ divisée par 2.

Compte-tenu de ces résultats en matière de rendements et de niveaux de contamination des blancs méthode, un étalonnage par calibration dans une matrice de référence a été choisi. Les étalons sont du sable de Fontainebleau (calciné à 450°C pendant 15h) dopé à différentes concentrations, qui a subi l'ensemble du protocole analytique. La même stratégie a été utilisée afin de déterminer le domaine de linéarité, les taux de recouvrement, la répétabilité et la précision intermédiaire, qui sont résumés dans le Tableau 28.

Les coefficients de corrélation sont tous supérieurs à 0,991, sauf pour les BAC-C₁₆ et C₁₈. Pour ces 2 derniers, à la fois hydrophobes et cationiques, les courbes de calibration tendent vers un modèle quadratique. Les taux de recouvrement ont été évalués au niveau de la LQ et à la LQ fois dix. Dans les deux cas, les taux de recouvrement sont supérieurs à 75%, ce qui montre que la calibration dans une matrice de référence permet de corriger efficacement les rendements plus faibles des TEAQ. La répétabilité et la précision intermédiaire ont également été évaluées à ces 2 niveaux de concentration. A la LQ, la précision inter-opérateurs a été évaluée, tandis qu'à 10 fois la LQ, c'est la précision inter-jours. Les coefficients de variation (CV) sont respectivement entre 6 et 22% et entre 10 et 32% pour la répétabilité et la précision intermédiaire. Les laureth sulfate et les TEAQ sont les composés qui présentent le plus de variabilité, ce qui peut avoir deux explications : des niveaux de contamination élevés et variables et des facteurs de réponse faibles en spectrométrie de masse. Dans l'ensemble, ces données de validation sont satisfaisantes.

Enfin, afin d'évaluer les effets matrice et de valider la pertinence de la calibration dans la matrice sable de Fontainebleau, trois échantillons de sédiments ont été extraits et analysés, puis les concentrations des tensioactifs calculées par calibration dans la matrice et ajouts dosés. Les différences entre les deux méthodes d'étalonnage étant inférieures à 25%, ces expériences nous ont permis de valider la calibration dans la matrice sable de Fontainebleau.

Tableau 28: Domaine de linéarité, taux de recouvrement, répétabilité et précision intermédiaire

Nom	Domaine de linéarité (µg/kg)	R ²	Taux de recouv. (%) à LQ	Répétabilité CV (%) à LQ (n = 6)	Précision intermédiaire inter-opérateur CV (%) à LQ (n = 6)	Taux de recouv. (%) à 10*LQ	Répétabilité CV (%) à 10*LQ (n = 6)	Précision intermédiaire sur 3 jours CV (%) à 10*LQ (n = 6)
LAS C10	6,4 - 65	0,999	107	10	15	105	9,3	10
LAS C11	49 - 490	0,998	107	8,9	16	106	7,1	14
LAS C12	44 - 440	0,999	119	8,3	14	115	7,6	23
LAS C13	31 - 310	0,996	119	18	20	114	8,1	17
LAS C14	32 - 318	0,999	109	6,7	16	106	7,3	11
C ₁₂ EO ₁ S	158 - 1580	0,995	101	15	22	101	22	32
C ₁₂ EO ₂ S	124 - 1240	0,995	106	13	25	113	19	30
SDS	123 - 1226	0,999	105	8,2	10	103	7,5	10
EHS	11 - 107	0,999	118	7,1	17	113	14	15
OP ₇ EO	9,6 - 96	0,999	91	15	20	96	9,3	19
OP ₈ EO	9,6 - 96	0,992	75	12	15	86	11	15
OP ₉ EO	9,6 - 96	0,996	84	15	20	90	12	15
OP ₁₀ EO	9,6 - 96	0,994	80	19	25	89	17	18
OP ₁₁ EO	9,6 - 96	0,999	82	10	15	89	16	17
CMEA	13 - 131	0,998	101	9,6	14	101	5,7	13
TMDD	42 - 416	0,999	94	14	18	97	6,2	13
BAC-C ₁₂	27 - 266	0,999	106	6,7	15	104	8,7	13
BAC-C ₁₄	18 - 178	0,994	115	6,8	17	124	12	20
BAC-C ₁₆	28 - 284	0,99	118	14	23	111	16	23
BAC-C ₁₈	34 - 244	0,99	113	20	25	95	20	28
DDAC-C ₁₀	40 - 402	0,991	112	13	18	117	16	18
LaurPyr	105 - 1050	0,999	105	8,6	16	104	10	17
TEAQ-C ₁₆	59 - 590	0,998	115	19	22	110	17	26
TEAQ-C ₁₈	32 - 320	0,993	119	12	20	108	16	23
TEAQ-C18 sat,	12 - 125	0,993	113	15	18	124	15	27
SADP-DMA	39 - 392	0,999	120	17	21	105	12	22
Cetylbétaïne	21 - 212	0,993	117	10	16	106	8,9	16

Principaux résultats du chapitre III

Préparation des échantillons environnementaux et validation des méthodes

Eau de surface

- Trois types de phase d'extraction sur phase solide (SPE) ont été testées et finalement, la phase optimale est différente pour chaque type de tensioactif : Cunax2 pour les anioniques, Strata-C18-E pour les non-ioniques et Oasis HLB pour les cationiques. Mais, globalement, c'est l'Oasis HLB qui permet d'obtenir les meilleurs rendements.
- La calcination des filtres en fibre de verre, le rinçage du système de filtration à l'eau minérale et la calcination des tubes d'élution permettent de réduire et stabiliser la contamination des blancs méthode. Cependant, aucun signal sur bruit n'est inférieur à 10 dans les blancs méthode, hormis pour 5 substances, LAS C14, CMEA, LaurPyr, SADP-DMA et cetylbétaïne.
- La validation du protocole finalisé donne des résultats satisfaisants. Les limites de quantification obtenues, entre 0,015 µg/L pour le LAS C10 et 0,485 µg/L, pour le SDS sont compatibles avec l'analyse des eaux de surface. L'étude de stabilité montre qu'à 4°C, la majorité des tensioactifs sont stables jusqu'à 7 jours, hormis les TEAQ.

Sédiments

- Hormis pour les tensioactifs anioniques, aucune condition d'extraction n'est optimale pour toutes les substances ciblées. Cependant, l'extraction assistée par ultrasons avec le mélange 90/10 acétonitrile à 1% d'acide acétique / eau à 0,1 M EDTA donne globalement les meilleurs résultats.
- La validation du protocole finalisé montre des performances satisfaisantes en matière de sensibilité, linéarité, précision et justesse. Les limites de quantification obtenues, entre 6,4 µg/kg pour le LAS C10 et 158 µg/kg pour le 1-laureth sulfate sont compatibles avec l'analyse des sédiments.

Chapitre IV : Application à des échantillons réels

Dans ce chapitre est présenté l'application des protocoles d'extraction et analyse validés à des échantillons réels prélevés dans le cadre de la campagne Emergents Nationaux (EMNAT) 2018.

La partie 1 présente les résultats de l'analyse de 25 tensioactifs de deux types de matrices liquides environnementales, eau de surface et eau traitée de station d'épuration, ainsi que de blancs terrain réalisés à partir d'eau minérale.

La partie 2 présente les résultats de l'analyse de 27 substances tensioactives dans trois types de matrices solides environnementales : sédiment de rivière, matière en suspension et boue de station d'épuration.

1- Matrices liquides

1.1- Protocole et échantillons analysés

La méthode d'analyse de tensioactifs finalisée, dont l'optimisation a été présentée dans les chapitres II et III, est résumée dans l'Annexe 4. Ce protocole a été appliqué à deux types de matrices liquides dans le cadre de la campagne Emergents Nationaux (EMNAT) 2018 (Figure 69). Dans un premier temps, trois campagnes de prélèvement (nommées C1, C2 et C3) d'eaux de rivière des 6 grands bassins hydrographiques de France (Adour Garonne, Artois-Picardie, Loire Bretagne, Rhône Méditerranée Corse, Rhin Meuse, Seine Normandie) ont été réalisées entre avril et novembre 2018, correspondant à l'analyse de 196 échantillons. Au cours de la 1^{ère} campagne, des blancs terrain ont été réalisés à l'aide d'eau Evian sur 24 des 67 points de prélèvement des eaux de rivière. Dans un second temps, sept prélèvements d'eaux usées traitées de station d'épuration urbaine (STEU) ont été effectués entre septembre 2018 et janvier 2019.

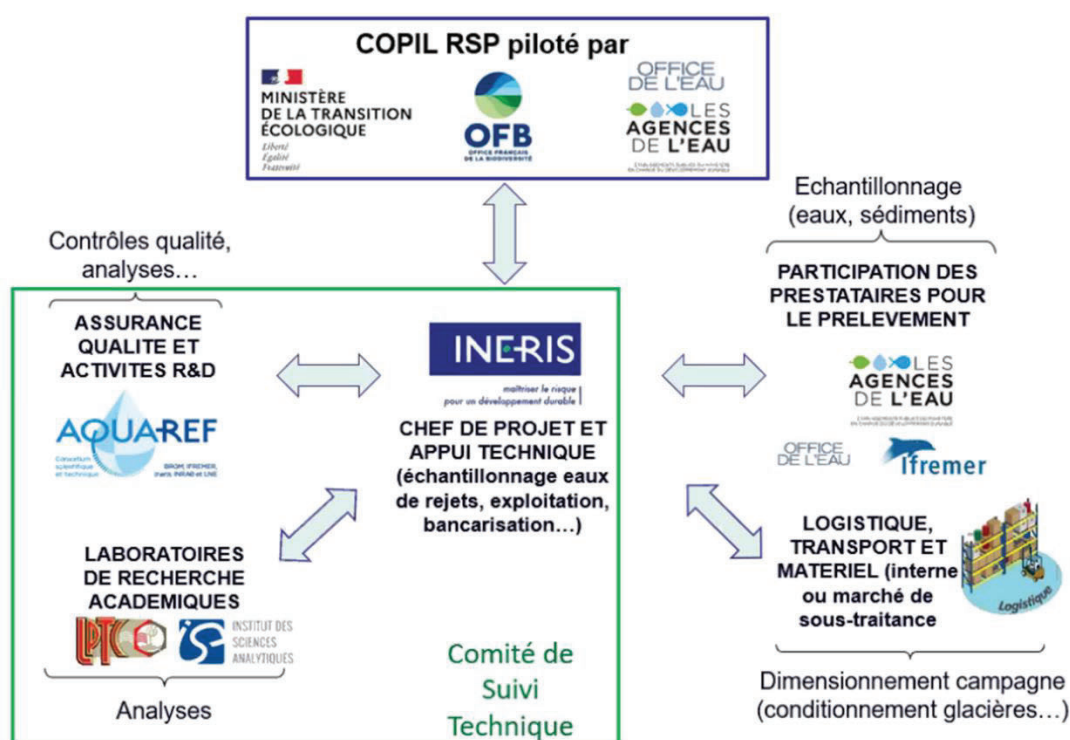


Figure 69: Acteurs et organisation de la campagne EMNAT 2018 (INERIS 2020)

Les tensioactifs ont été quantifiés à l'aide d'une calibration dans la matrice, les étalons étant de l'eau minérale Evian dopée (conditionnée dans des bouteilles en verre) avec les standards des tensioactifs (Tableau 18), ayant subi l'ensemble du protocole analytique. Chaque calibration était composée de 6 points correspondant à un blanc méthode et aux cinq niveaux de concentration, 0,5*LQ, 1*LQ, 2,5*LQ, 5*LQ et 10*LQ. Le point à 0,5*LQ a permis de vérifier que le signal correspondant à cette concentration était bien supérieur au blanc méthode. Si ce n'était pas le cas, des nettoyages du système analytique LC-MS/MS ont été réalisés à l'aide de différents mélanges de solvants, jusqu'à obtention d'un bruit de fond compatible avec les LQ. Au cours des séquences analytiques, deux types de tensioactifs ont présenté des bruits de fond supérieurs aux LQ : les LAS et les TEAQ. Les bruits de fond les plus élevés ont été observés après les injections des extraits d'effluents de station d'épuration, ce qui démontre une adsorption de ces composés dans le système analytique.

Dix-huit blancs de méthode ont été extraits simultanément aux échantillons et injectés dans les mêmes séquences LC-MS/MS pour s'assurer que les signaux dans les blancs étaient inférieurs à la LQ. Sur ces 18 blancs de méthode, deux ont présentés une contamination en LAS : un pour lequel les LAS C10 et C11 ont été quantifiés et le deuxième dans lesquels les 4 homologues, LAS C10 à C13 ont été quantifiés. Des études récentes (Freeling et al. 2019, Li et al. 2020) ont également reporté ces phénomènes de contamination par les LAS. Les concentrations retrouvées sont très proches des LQ méthode. Cependant, ce résultat montre la difficulté à analyser ces composés et la nécessité d'être très vigilant sur les blancs pour le suivi des tensioactifs, en particulier les LAS.

1.2- Blancs terrain

24 blancs terrain ont été réalisés au cours de la 1^{ère} période prélèvement (C1) d'eaux de rivière de la campagne EMNAT 2018. Les résultats d'analyse des tensioactifs dans ces échantillons sont résumés dans le Tableau 29.

Sur les 25 substances tensioactives analysées, 10 ont été quantifiées dans les blancs terrain, dont 9 de type anionique et une seule de type cationique. Le SADP-DMA a été quantifié dans un échantillon. Ce composé ne pose pas de problèmes de contamination des blancs analytiques (Tableau 24). Principalement utilisé dans les cosmétiques, et plus particulièrement les shampoings (Cosmetic Ingredient Review 2012), cette contamination pourrait provenir d'un

opérateur. Le LAS C14 a également été quantifié dans un échantillon. Ce composé n'est pas censé être présent dans les formulations utilisées en Europe mais il est quand même retrouvé à de faibles teneurs par rapport aux autres LAS, entre 0 et 1% de la teneur totale en LAS (Schmidt et al. 2010).

Tableau 29: Nombre d'échantillons positifs, fréquence de quantification, concentration moyenne et maximum et rapport concentration moyenne sur LQ des tensioactifs dans les blancs terrain

Substance	Nombre d'échantillons >LQ (n=24)	Fréquence de quantification (%)	Concentration maximum (µg/L)	Concentration moyenne (µg/L)	Rapport concentration moyenne sur LQ
LAS C11	13	54	1,09	0,488	4
LAS C10	10	42	0,135	0,062	4
LAS C13	10	42	0,465	0,228	3
LAS C12	9	37	0,831	0,462	5
C ₁₂ EO ₁ S	6	25	1,58	0,539	1
C ₁₂ EO ₂ S	6	25	1,21	0,399	1
EHS	4	17	0,799	0,332	7
SDS	3	12	0,769	0,501	1
LAS C14	1	4	0,143	0,121	1
SADP-DMA	1	4	0,077	0,077	2
OP ₇₋₁₁ EO	0	0			
CMEA	0	0			
TMDD	0	0			
BAC-C ₁₂	0	0			
BAC-C ₁₄	0	0			
DDAC-C ₁₀	0	0			
LaurPyr	0	0			
TEAQ-C ₁₆	0	0			
TEAQ-C ₁₈	0	0			
Cetylbétaïne	0	0			

Concernant les substances quantifiées dans plus d'un échantillon, deux groupes se distinguent, les LAS, et les alkyl et alkyl ether sulfates. Les LAS ont été quantifiés dans plus de 37% des échantillons et à des concentrations entre 3 et 5 fois supérieures aux LQ. Ces composés sont présents dans de nombreuses formulations aux multiples applications. Il est donc difficile de déterminer leurs sources. Une d'entre elles pourrait être liée à l'utilisation de gants nitriles (comme recommandé dans le protocole de l'INERIS) dans lesquels Li et al. 2020 ont reporté la présence de LAS à de fortes teneurs.

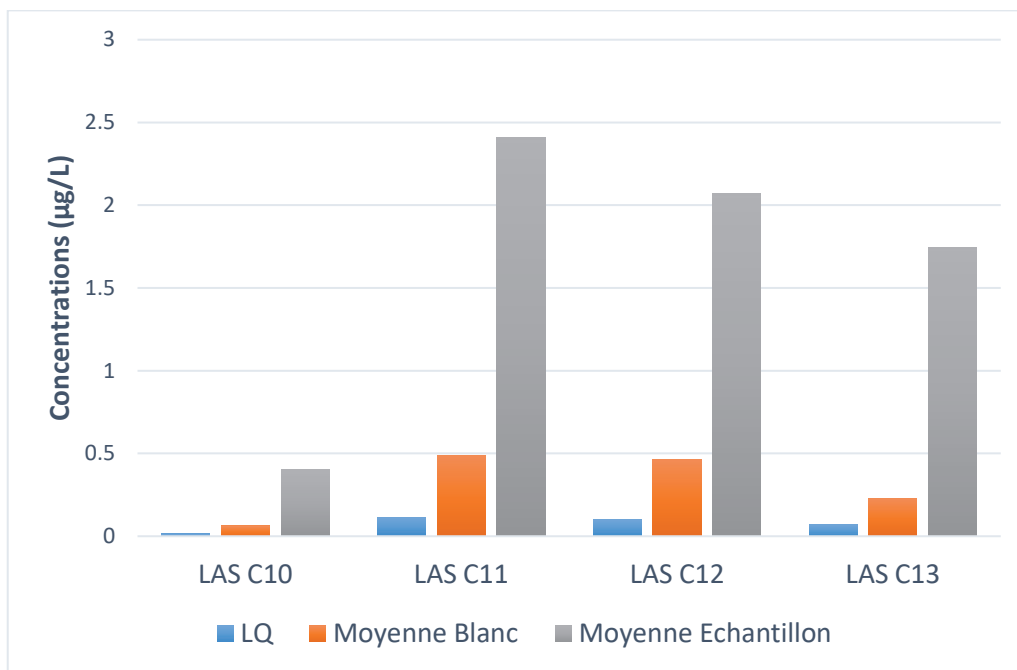


Figure 70: LQ, et concentrations moyennes dans blancs terrain (n=24) et des échantillons d'eaux de rivière (n=196) des LAS

Cependant les concentrations dans les blancs terrain sont en moyenne entre 4 et 7 fois inférieures à celles des échantillons de rivière (Figure 70). On peut donc considérer que cette contamination des blancs terrain est peu impactante sur les résultats d'analyse des échantillons de rivière.

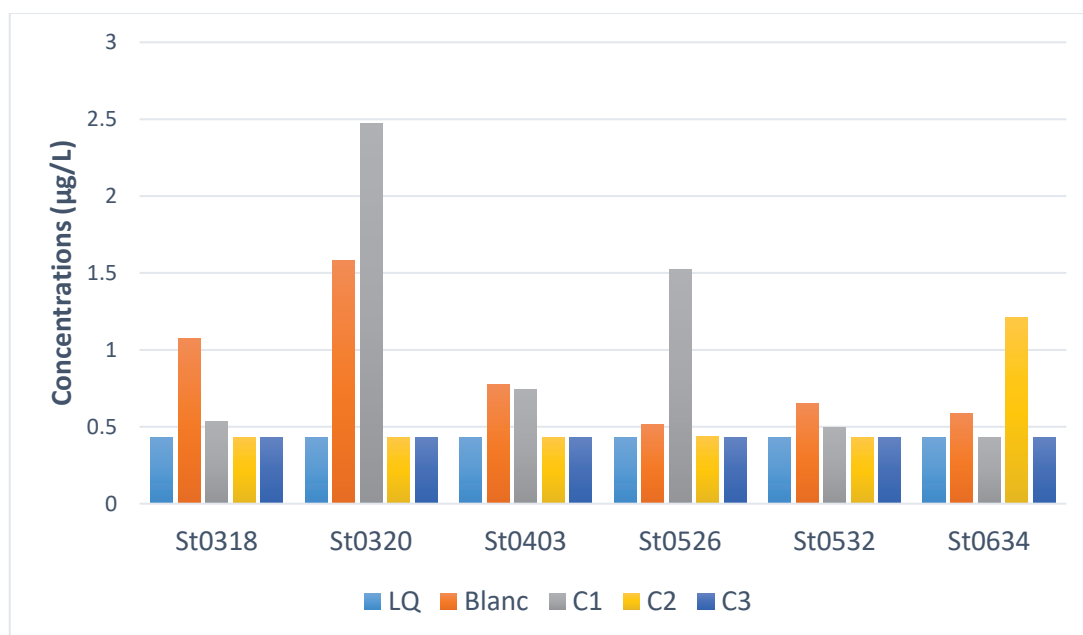


Figure 71: LQ, concentration dans les blancs terrain et les échantillons d'eaux de rivière provenant des mêmes points de prélèvement du 1-laureth sulfate

En ce qui concerne les alkyl et alkyl éther sulfates, les fréquences de quantification sont inférieures à celles de LAS et surtout les concentrations sont de l'ordre de grandeur des LQ, avec des rapports entre concentrations moyennes et LQ proches de 1 (Tableau 29). Dans le cas des laureth sulfate, sur les 6 blancs terrain positifs, 5 échantillons correspondant, prélevés en C1, présentent également des concentrations supérieures à la LQ (Figure 71). Une hypothèse serait donc une contamination croisée entre les blancs terrain et les échantillons d'eaux de rivière.

En résumé, principalement des tensioactifs anioniques, dont le bruit de fond dans les blancs méthode est déjà élevé, ont été quantifiés dans les blancs terrain. Les concentrations retrouvées ne semblent pas compromettre les résultats d'analyse des échantillons d'eau de rivière. Cependant cette étude permet de montrer l'importance de réaliser des blancs terrain, en particulier dans le cadre de campagne de suivi des LAS et des alkyl et alkyl éther sulfates.

1.3- Eaux de rivière

Les 25 substances tensioactives ont été recherchées dans 196 échantillons de rivière prélevés dans les 6 bassins hydrographiques de France, sur 3 campagnes d'avril à novembre 2018.

Sur les 25 substances, une seule n'a jamais été détectée : la cetylbétaïne, un tensioactif zwitterionique (Tableau 30). A notre connaissance, ce composé n'a jamais été recherché dans des eaux de surface. Seule une étude (Bergé et al. 2018) rapporte son occurrence dans les eaux usées brutes et traitées. Dans les eaux traitées, cette substance avait été quantifiée dans moins de 15% des échantillons à des concentrations inférieures au ng/L. En ce qui concerne les tensioactifs quantifiés, on constate que les moins quantifiés sont les tensioactifs cationiques, suivis des non-ioniques et enfin les anioniques, en particulier les LAS C10 à C13 qui sont quantifiés dans plus de 80% des échantillons.

Tableau 30: Fréquence de quantification, concentrations moyennes et maximum des tensioactifs dans les eaux de rivière

Substance	Nombre d'échantillons >LQ (n=196)	Fréquence de quantification (%)	Concentration moyenne (µg/L)	Concentration maximum (µg/L)
LAS C11	174	89	2,41	15,8
LAS C12	169	86	2,07	18,5
LAS C10	160	82	0,401	3,04
LAS C13	158	81	1,75	15,9
C ₁₂ EO ₁ S	48	24	1,54	7,16
SDS	34	17	1,02	3,99
TMDD	30	15	0,269	0,862
C ₁₂ EO ₂ S	29	15	1,48	4,91
EHS	29	15	0,192	0,799
OP ₇₋₁₁ EO	10	5	0,417	1,92
DDAC-C ₁₀	9	5	0,185	0,544
LAS C14	4	2	0,362	0,996
BAC-C ₁₂	4	2	0,407	1,28
BAC-C ₁₄	4	2	0,148	0,245
CMEA	2	1	0,3	0,347
TEAQ-C ₁₆	2	1	0,525	0,725
TEAQ-C ₁₈	2	1	1,14	1,97
SADP-DMA	2	1	0,065	0,079
LaurPyr	1	0,5	0,043	0,043
TEAQ-C18 sat.	1	0,5	0,279	0,279
Cetylbétaïne	0	0		

Avec des fréquences de quantification entre 0,5 et 5%, les tensioactifs cationiques ont été globalement peu retrouvés dans les eaux de rivière. Les concentrations moyennes se situent entre 43 ng/L pour le LaurPyr et 1140 ng/L pour le TEAQ-C₁₈. La littérature rapporte une forte affinité de ces tensioactifs pour la phase particulaire (Margot et al. 2015), ce qui peut expliquer ces faibles fréquences de quantification. A notre connaissance, aucune donnée d'occurrence dans les eaux de rivière n'est disponible pour les TEAQ, LaurPyr et SADP-DMA. Bergé et al. 2018 ont recherché ces tensioactifs dans des eaux usées brutes et traitées. Ils avaient été quantifiés dans 50% des échantillons à des concentrations entre 0,5 et 10 ng/L. Les BAC-C₁₂ et C₁₄ et le DDAC-C₁₀ ont également été quantifiés dans un petit nombre d'échantillons à des concentrations moyennes entre 0,185 et 0,407 µg/L, ce qui est conforme à l'étude de Martinez-

Carballo et al. (Martinez-Carballo et al. 2007b). Malgré ces faibles fréquences de quantification, la matrice de corrélation (Figure 72) de ces tensioactifs montre de fortes corrélations entre les homologues d'une même famille, à savoir BAC-C₁₂ et C₁₄ et TEAQ-C₁₆ et C₁₈.

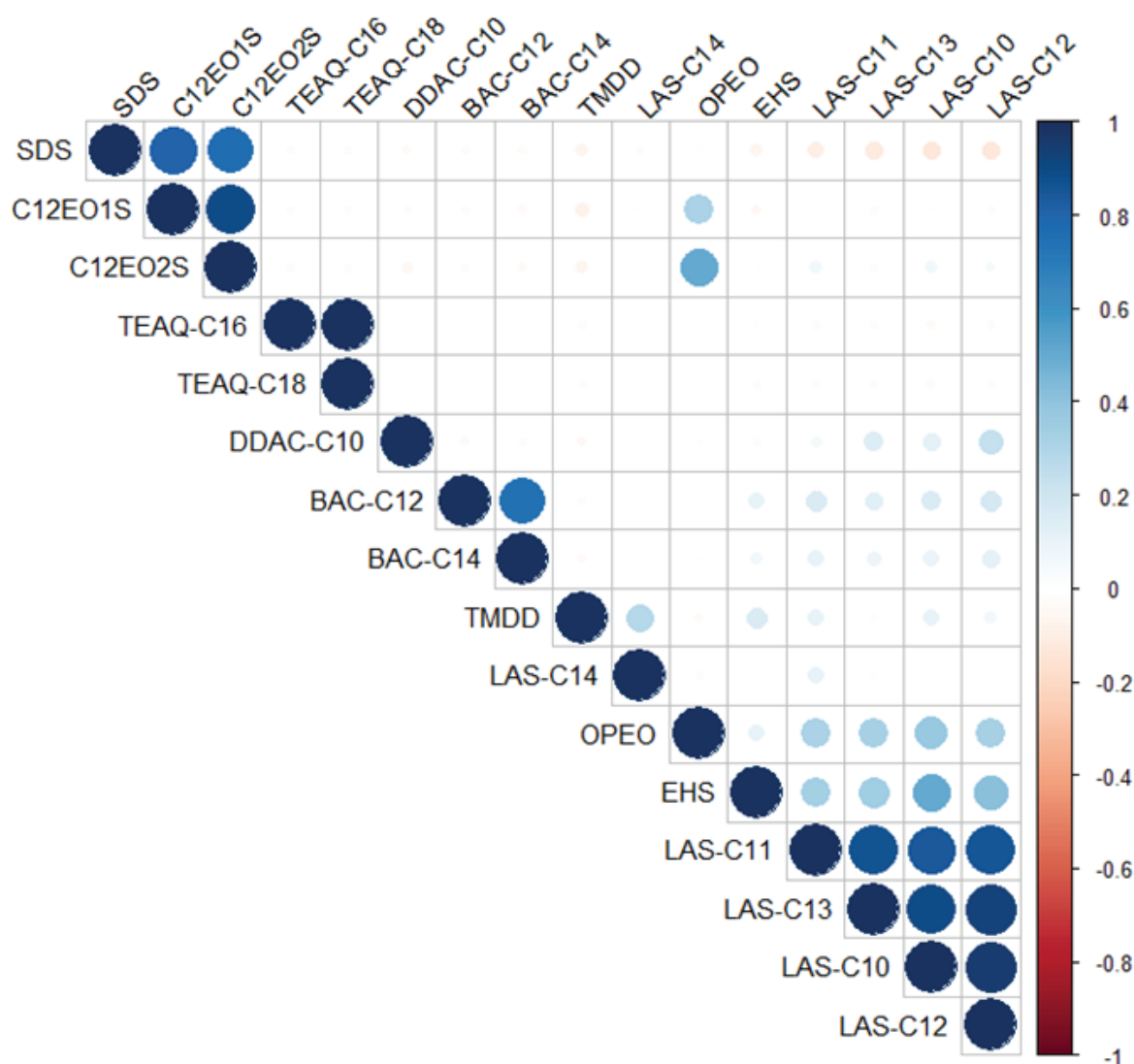


Figure 72: Matrice de corrélation des tensioactifs dans les eaux de rivière (R package « corrplot ») (Wei & Simko 2017)

Les tensioactifs non-ioniques CMEA, OP₇₋₁₁EO et TMDD ont été quantifiés respectivement dans 2, 10 et 30 échantillons sur les 196 analysés. Les OP₇₋₁₁EO ont été quantifiés dans 5% des échantillons à une concentration moyenne de 0,417 µg/L. Dans tous les échantillons où ils ont été quantifiés, les 5 homologues ont été retrouvés, à concentrations équivalentes. C'est pourquoi leurs résultats sont présentés sous la forme de la somme de leurs concentrations.

Même si ces homologues n'avaient jamais été recherchés dans les eaux de rivière, ces observations restent conformes à la littérature (Loyo-Rosales et al. 2003), à savoir des fréquences de quantification faibles. En effet, l'utilisation des APEO a diminué suite à l'identification en tant que perturbateur endocrinien, l'inscription dans la convention OSPAR et dans la liste des « substances extrêmement préoccupantes » de la réglementation REACH de leurs principaux produits de dégradation (INERIS 2016). Cependant, en raison de l'urgence de santé publique concernant le COVID-19, fin 2020, l'Union européenne a adopté des modifications qui affectent la "date limite d'application" et la "date d'expiration" pour les OPEO (sous le nom de 4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl)phénol, éthoxylé) pour les utilisations liées au COVID-19 (Règlement UE 2020).

Ce sont les premières données dans les eaux de rivière concernant le CMEA. Bergé et al. 2018 n'avait pas quantifié ce composé dans les eaux usées traitées de station d'épuration, ce qui peut expliquer sa très faible quantification. Enfin, le TMDD (nom commercial Surfynol 104) a été quantifié dans 15% des échantillons. Sa concentration moyenne est 269 ng/L, ce qui est cohérent avec les concentrations de TMDD retrouvées dans le Rhin (Guedez et al. 2010). D'après la littérature, ses principales sources sont les eaux usées des industries de recyclage du papier et des usines produisant de la peinture et de l'encre d'imprimerie (Guedez & Puttmann 2014).

Enfin, les substances anioniques sont les tensioactifs les plus quantifiés. Les 4 substances de type alkyl et alkyl éther sulfates ont des fréquences de quantification comparables, entre 15% pour l'EHS et 24% pour le 1-laureth sulfate (Tableau 30). Parmi celles-ci, l'EHS est celle dont la concentration moyenne est la plus faible, de l'ordre de la centaine de ng/L. Contrairement aux LAS et aux laureth sulfates, ce composé ne fait pas partie de la liste de substances produites à de forts tonnages de l'OCDE. Par ailleurs, comme le montre la Figure 72, sa concentration est corrélée à celles des LAS C10 à C13 ($p\text{-value} < 0,001$ (Harrell 2020)).

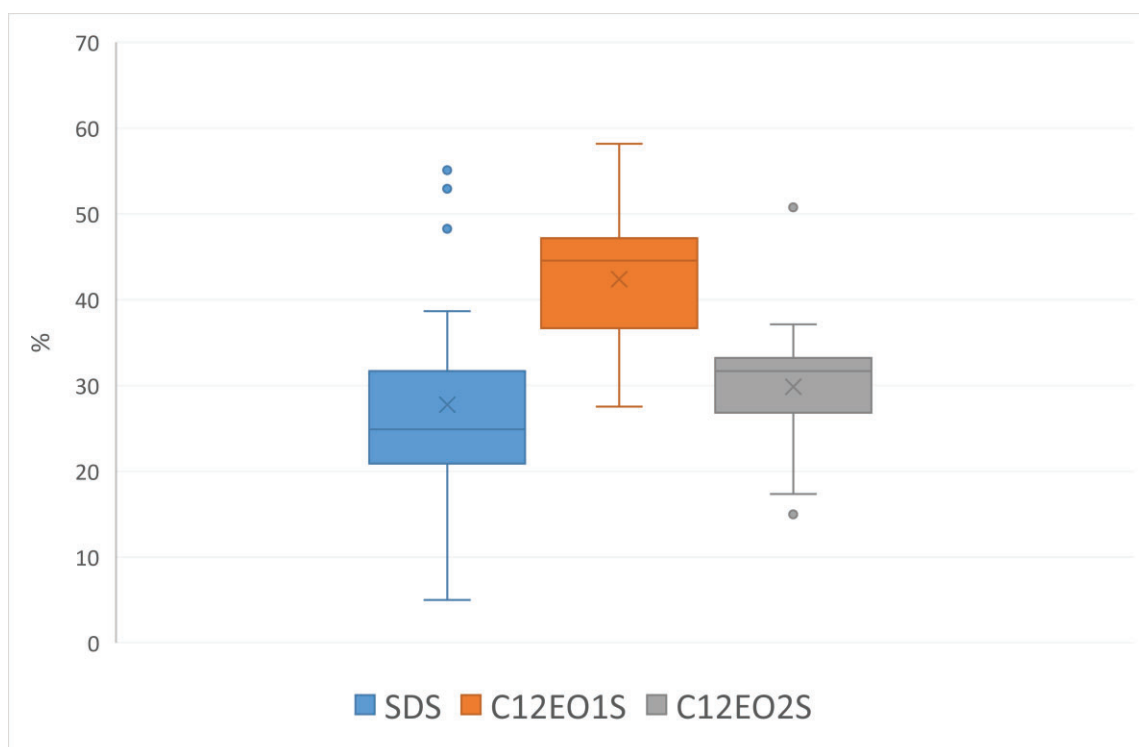


Figure 73: Boxplots de distribution des lauryl et laureth sulfates dans les eaux de rivière

Les concentrations en SDS, qui correspond au $C_{12}EO_0S$, $C_{12}EO_1S$ et $C_{12}EO_2S$ sont en moyenne 10 fois plus élevées que celle de l'EHS, de l'ordre du $\mu g/L$. Ces concentrations sont comparables à celles de l'étude d'Huber et al. 2016, qui portait sur des eaux de surface des îles Féroé, Islande et Groenland. De plus leurs concentrations sont fortement corrélées (Figure 72). En effet, ces 3 substances font partie des homologues majoritaires des sodium lauryl éther sulfates. Le SDS peut également être utilisé seul, ce qui expliquerait une corrélation plus faible qu'entre les 2 laureth sulfate. La Figure 73 présente le pourcentage de chacune de ces substances par rapport à la somme de leurs concentrations. Dans la majorité des échantillons, c'est le 1-laureth sulfate qui présente les concentrations les plus élevées. Il représente entre 27 et 58% de la somme des concentrations des lauryl et laureth sulfates.

Enfin, les LAS C10 à C13 sont les tensioactifs présentant à la fois les fréquences de quantification et les concentrations les plus élevées. Comme le montre la Figure 74, les homologues les plus quantifiés sont les LAS C11 et C12, avec des fréquences de quantification respectives de 89 et 86% et des concentrations moyennes supérieures à 2 $\mu g/L$.

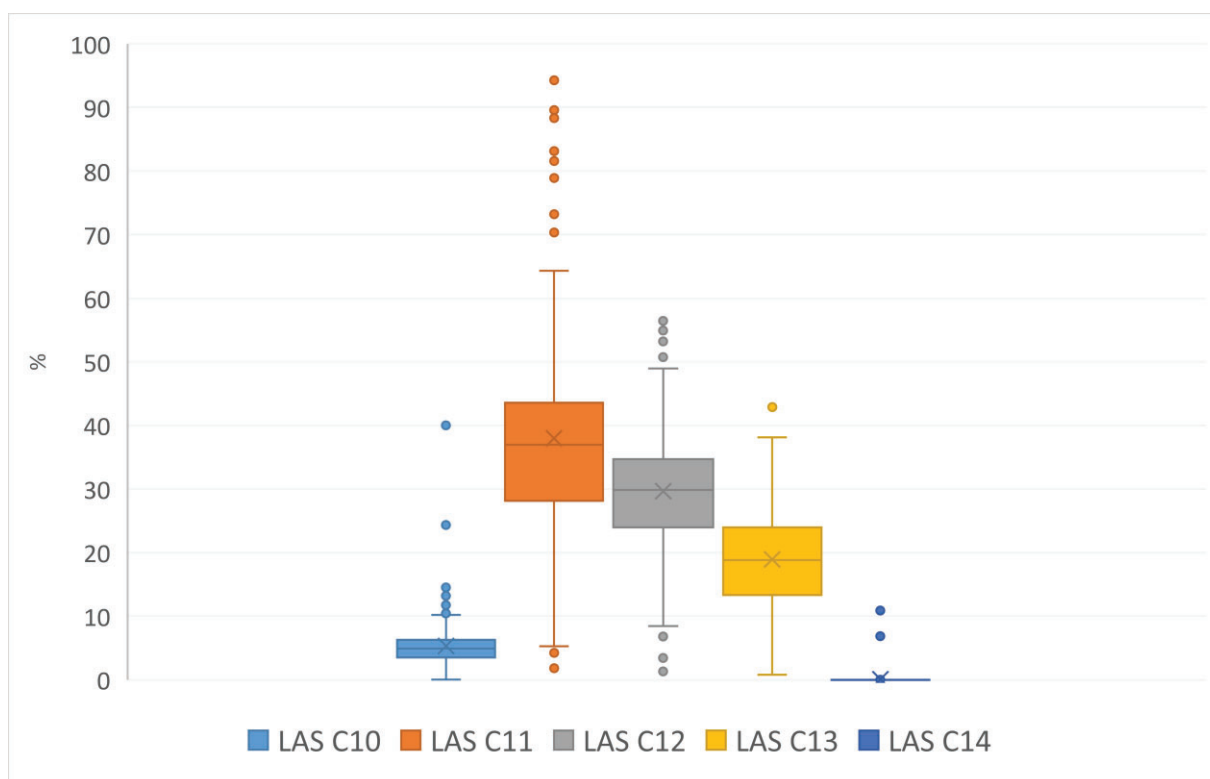


Figure 74: Boxplots de distribution des homologues des LAS dans les eaux de rivière

Les concentrations des LAS C10 à C13 sont fortement corrélées (Figure 72), ce qui montre qu'ils sont bien présents dans les mêmes formulations. Les formulations de LAS utilisées en Europe ne sont pas censées contenir de LAS C14. Sa quantification dans 4 échantillons montre qu'il est tout de même présent dans les formulations mais à des pourcentages très faibles. Les concentrations élevées des LAS dans les eaux de rivière sont conformes aux suivis effectués en Espagne (Traverso-Soto et al. 2005), en Malaisie (Sakai et al. 2017) et en Inde (Kurrey et al. 2019). Bien que les LAS soient bien éliminés par les traitements des stations d'épuration, les concentrations résiduelles sont encore importantes, ce qui entraîne une pseudo-persistence dans l'environnement (Cowan-Ellsberry et al. 2014).

Afin d'évaluer le potentiel impact écotoxicologique de ces substances, il est important de comparer les concentrations retrouvées avec les PNEC. Le Tableau 31 présente les rapports entre les concentrations moyennes et maximum et les PNEC de chaque tensioactif. Sept substances présentent des rapports entre concentrations moyennes et PNEC supérieurs à 1 : les LAS C11 à C13, les laureth sulfates, les OPEO et le TEAQ-C₁₈.

Tableau 31: Fréquence de quantification et rapports entre les concentrations moyennes et maximum et les PNEC dans les eaux de rivière

Substance	Fréquence de quantification (%)	Concentration moyenne / PNEC	Concentration maximum / PNEC
LAS C13	81	20,6	187,1
LAS C12	86	10,4	92,5
LAS C11	89	2,4	15,8
C ₁₂ EO ₁ S	24	1,5	7,2
OP ₇₋₁₁ EO	5	1,5	6,9
C ₁₂ EO ₂ S	15	1,5	4,9
TEAQ-C ₁₈	1	1,1	2,0
DDAC-C ₁₀	5	0,9	2,7
LaurPyr	0,5	0,9	0,9
TEAQ-C ₁₆	1	0,5	0,7
BAC-C ₁₂	2	0,4	1,3
LAS C10	82	0,4	3,0
TEAQ-C ₁₈ sat.	1	0,3	0,3
CMEA	1	0,2	0,3
BAC-C ₁₄	2	0,1	0,2
SADP-DMA	1	0,1	0,2
EHS	15	0	0,1
TMDD	15	0	0,1
SDS	17	0	0,1
Cetylbetaine	0	0	0
LAS C14	2	nd	nd

Quatre de ces substances ont cependant des fréquences de quantification inférieures à 25%, les laureth sulfate, OPEO et le TEAQ. Ces dernières peuvent donc représenter un risque pour l'environnement localement. Ce n'est pas le cas pour les LAS C11 à C13, pour lesquels les rapports entre concentrations moyennes et PNEC sont supérieurs à 2 et les fréquences de quantification supérieures à 80%. Les LAS C11 à C13 représentent donc un risque significatif pour les écosystèmes des eaux de rivière sur une grande partie du territoire français.

1.4- Effluents de station d'épuration

Le protocole analytique développé (Annexe 4) a également été appliqué à six eaux traitées de station d'épuration en réduisant le volume chargé sur la cartouche SPE de 400 à 250 mL. Les résultats d'analyse des tensioactifs sont résumés dans le Tableau 32.

Tableau 32: Fréquence de quantification, concentrations moyennes et maximum des tensioactifs dans les effluents de STEU

Substance	Nombre d'échantillons >LQ (n=6)	Fréquence de quantification (%)	Concentration moyenne (µg/L)	Concentration maximum (µg/L)
LAS C10	6	100	1,13	3,27
LAS C11	6	100	5,84	18,1
LAS C12	6	100	4,74	18,8
LAS C13	6	100	3,45	17,2
TMDD	5	83	0,097	0,175
EHS	2	33	0,074	0,075
LAS C14	1	17	0,769	0,769
OP ₇₋₁₁ EO	1	17	0,195	0,195
DDAC-C ₁₀	1	17	1,03	1,03
TEAQ-C ₁₈ sat.	1	17	0,366	0,366
SADP-DMA	0	0		
C ₁₂ EO ₁ S	0	0		
C ₁₂ EO ₂ S	0	0		
SDS	0	0		
CMEA	0	0		
BAC-C ₁₂	0	0		
BAC-C ₁₄	0	0		
LaurPyr	0	0		
TEAQ-C ₁₆	0	0		
TEAQ-C ₁₈	0	0		
Cetylbétaïne	0	0		

Bien que le nombre d'échantillons soit beaucoup plus faible que pour les eaux de rivière, on observe des tendances similaires, à savoir des fréquences de quantification faibles voire nulles pour les tensioactifs cationiques, moyennes pour les non-ioniques et élevées pour les

anioniques. Parmi les cationiques, seuls le DDAC-C₁₀ et les TEAQ-C₁₈ sat. ont été quantifiés dans un échantillon. Les études précédentes concernant les BAC et DDAC dans les eaux usées traitées ont donné des résultats très contrastés. Dans certaines, ils ne sont pas quantifiés ou retrouvés à des concentrations très faibles, inférieures à la dizaine de ng/L (Bergé et al. 2018, Li et al. 2020, Ostman et al. 2017). Et dans d'autres, ils sont quantifiés à des concentrations supérieures à la centaine de ng/L (Martinez-Carballo et al. 2007b, Paijens et al. 2021).

Au niveau des non-ioniques, le TMDD a été quantifié dans 5 des 6 échantillons, ce qui montre la contribution élevée des stations d'épuration dans la contamination des eaux de rivière avec ce composé. Guedez & Puettmann 2011 ont recherché ce composé dans les influents et effluents de 4 stations d'épuration d'Allemagne. Les concentrations moyennes des effluents se situaient entre 0,3 et 0,9 µg/L, ce qui correspond au même ordre de grandeur que nos résultats.

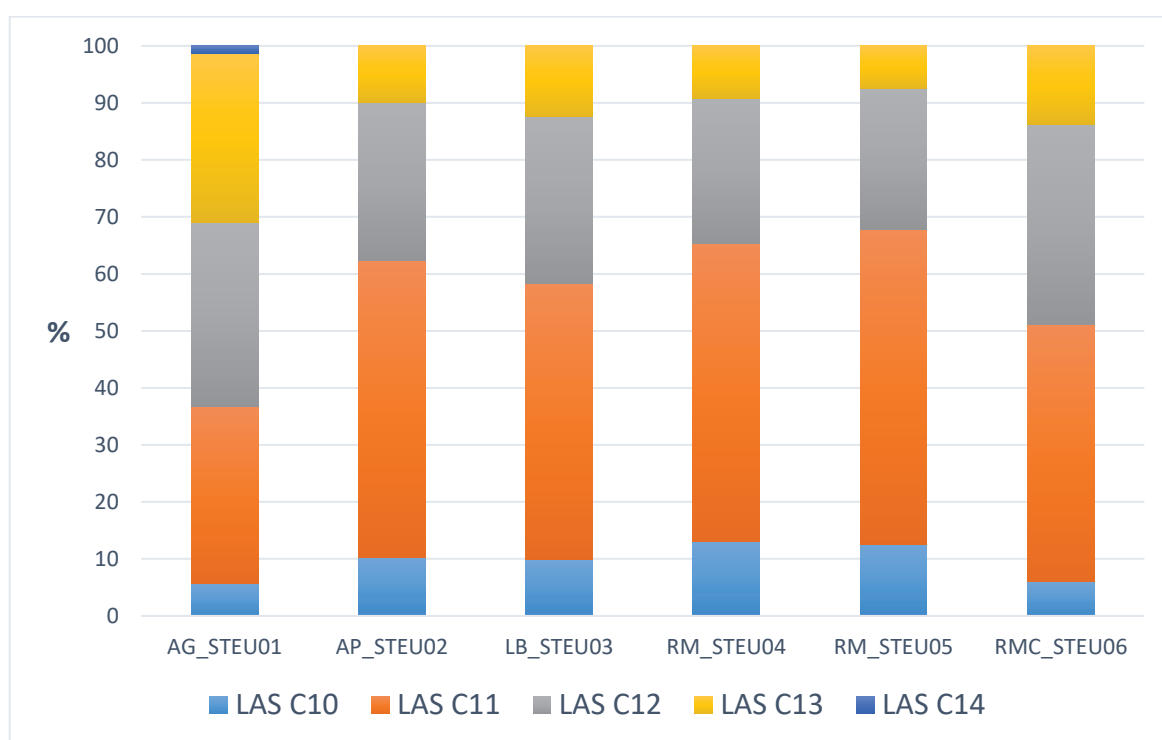


Figure 75: Distribution des LAS dans les effluents de station d'épuration

En ce qui concerne les tensioactifs anioniques, contrairement aux eaux de rivière, seuls l'EHS et les LAS ont été quantifiés. Les lauryl et laureth sulfates n'ont pas été retrouvés dans les eaux traitées, ce qui pourrait montrer une contamination diffuse de ces composés notamment au travers des formulations de produits phytosanitaires (Dollinger et al. 2018).

Les LAS C10 à C13 ont été quantifiés dans tous les échantillons d'eaux traitées. Les concentrations en LAS C11 sont entre 1,72 et 18,1 $\mu\text{g/L}$ ce qui est très élevé mais conforme à la littérature (Freeling et al. 2019). Les proportions relatives entre les 5 homologues sont très proches de celles des eaux de rivière comme le montre la Figure 75.

Enfin, grâce au dopage de chaque échantillon avec 3 étalons isotopiquement marqués, l'impact de la matrice sur les performances de notre protocole analytique a pu être évalué. La Figure 76 montre les boxplots des aires des étalons marqués dans les eaux de surface (ESU) et effluents de STEU (STEU).

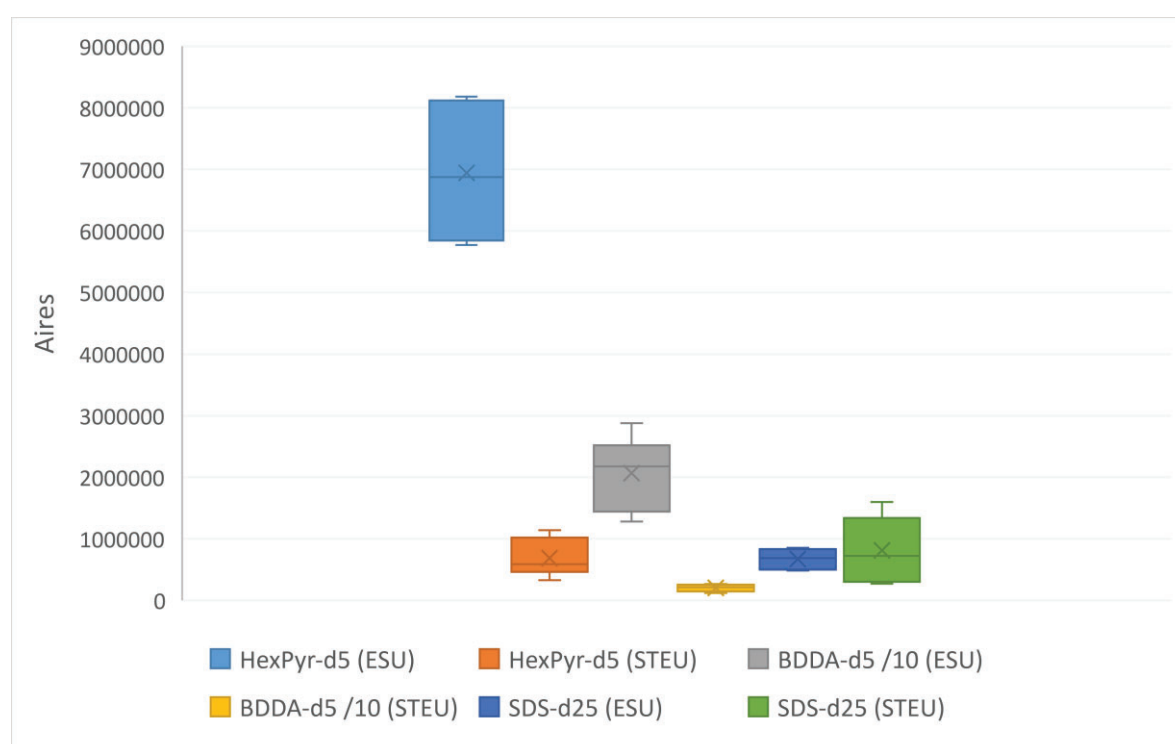


Figure 76: Comparaison des aires des étalons marqués dans les eaux de surface (ESU) et effluents de station d'épuration (STEU)

HexPyr-d5 et BDDA-d5 sont des tensioactifs cationiques, détectés en ESI positive. Pour ces deux composés, les aires sont très inférieures dans les STEU, par rapport aux ESU. Cette baisse peut avoir deux explications. Les STEU étant des matrices plus chargées que les ESU, les interférences peuvent engendrer des suppressions de signal, appelées également effets de matrice. Une autre explication peut être la présence de particules dans les STEU sur lesquelles les tensioactifs cationiques sont adsorbés, qui peut diminuer les rendements d'extraction. Par contre, en ce qui concerne le SDS-d25, tensioactif anionique détecté en ESI négative, les aires

entre les ESU et les STEU sont très proches. Ces observations montrent donc que notre protocole serait adapté à l'analyse des tensioactifs anioniques dans les effluents de station d'épuration, alors qu'une étape de purification supplémentaire serait à mettre au point en ce qui concerne les tensioactifs cationiques.

2- Matrices solides

2.1- Protocole et échantillons analysés

La méthode d'analyse de tensioactifs dans les sédiments finalisée par UAE et LC-MS/MS, dont l'optimisation a été présentée dans les chapitres II et III, est résumée dans l'Annexe 5. Ce protocole a été appliqué à trois types de matrices solides environnementales (sédiments, matières en suspension et boues) dans le cadre de la campagne Emergents Nationaux (EMNAT) 2018. Une campagne de prélèvement de sédiments de rivière des 6 grands bassins hydrographiques de France (Adour Garonne, Artois-Picardie, Loire Bretagne, Rhône Méditerranée Corse, Rhin Meuse, Seine Normandie) a été réalisée entre septembre et octobre 2018, correspondant à l'analyse de 49 échantillons. Neuf prélèvements de matières en suspension (MES) dans les eaux de surface ont été réalisés sur trois sites du bassin Rhin Meuse entre juillet et novembre 2018. Sept prélèvements de boues de station d'épuration urbaine (STEU) ont également été effectués entre septembre 2018 et janvier 2019.

Les tensioactifs ont été quantifiés à l'aide d'une calibration dans la matrice, les étalons étant du sable de Fontainebleau (calciné à 450°C pendant 15h) dopé avec les standards des tensioactifs (Tableau 18), ayant subi l'ensemble du protocole analytique. Chaque calibration était composée de 6 points correspondant à un blanc méthode et aux cinq niveaux de concentration, 0,5*LQ, 1*LQ, 2,5*LQ, 5*LQ et 10*LQ. Le point à 0,5*LQ a permis de vérifier que le signal correspondant à cette concentration était bien supérieur au blanc méthode. Si ce n'était pas le cas, des nettoyages du système analytique LC-MS/MS ont été réalisés à l'aide de différents mélanges de solvants, jusqu'à obtention d'un bruit de fond compatible avec les LQ.

Au cours des séquences analytiques, deux types de tensioactifs ont présenté des bruits de fond supérieurs aux LQ : les LAS et les TEAQ. En ce qui concerne les LAS, les bruits de fond les plus élevés ont été observés après les injections des extraits de boues de station d'épuration, ce qui démontre une adsorption de ces composés dans le système analytique. Dix blancs de méthode ont été extraits simultanément aux échantillons et injectés dans les mêmes séquences LC-MS/MS pour s'assurer que les signaux dans les blancs étaient inférieurs à la LQ. Sur ces 10 blancs de méthode, aucun n'a présenté de concentration supérieure aux LQ.

2.2- Sédiments de rivière

Les 27 substances tensioactives ont été recherchées dans 49 échantillons de sédiments de rivière prélevés dans les 6 bassins hydrographiques de France, entre septembre et octobre 2018.

Sur les 27 substances tensioactives recherchées, 9 n'ont pas été détectées : une cationique LaurPyr, une anionique, 2-laureth sulfate, et tous les tensioactifs non-ioniques ciblés, OP₇₋₁₁EO, CMEA et TMDD (Tableau 33). LaurPyr et CMEA n'avaient été quantifiés que dans très peu d'échantillons d'eaux de rivière. Ces données confirment que ces 2 composés sont peu présents dans les rivières. Dans l'étude de Loyo-Rosales et al. 2003, les OP₁₋₅EO avaient été recherchés dans des eaux et sédiments de rivière et avaient été très peu quantifiés. En Europe occidentale, l'utilisation des APEO a diminué suite à l'identification en tant que perturbateur endocrinien, l'inscription dans la convention OSPAR et dans la liste des « substances extrêmement préoccupantes » (substance of very high concern (SVHC)) de la réglementation REACH de leurs principaux produits de dégradation (les AP) (INERIS 2016). Cependant, une dérogation d'utilisation des OPEO a récemment été publiée en raison de leur utilisation pour la production de kits de diagnostic in vitro et la mise au point de vaccins visant à lutter contre la COVID-19 (Règlement (UE) 2020/2160). Enfin, contrairement aux OPEO, LaurPyr et CMEA, le TMDD a été quantifié dans 15% des eaux de rivière. Le fait qu'il n'ait pas été quantifié dans les sédiments laisse supposer que ce composé a peu d'affinité pour la phase particulaire.

Tableau 33: Fréquence de quantification, concentrations moyennes et maximum des tensioactifs dans les sédiments

Substance	Nombre d'échantillons >LQ (n=49)	Fréquence de quantification (%)	Concentration moyenne (µg/kg)	Concentration maximum (µg/kg)
DDAC-C ₁₀	31	63	473	6800
LAS C13	28	57	3159	23600
LAS C11	27	55	1231	11580
LAS C12	27	55	2434	19920
BAC-C ₁₄	21	43	255	2060
LAS C10	20	41	69,6	558
BAC-C ₁₂	20	41	339	5030
BAC-C ₁₈	12	24	80,1	266
BAC-C ₁₆	10	20	86,9	432
LAS C14	7	14	658	2600
TEAQ-C ₁₆	6	12	98,8	149
TEAQ-C ₁₈ sat.	5	10	828	1960
Cetylbétaïne	5	10	113	400
TEAQ-C ₁₈	4	8	23,5	37,4
C ₁₂ EO ₁ S	2	4	455	498
SDS	2	4	230	236
EHS	2	4	20,4	28,4
SADP-DMA	1	2	82,6	82,6
TMDD	0	0		
C ₁₂ EO ₂ S	0	0		
OP ₇₋₁₁ EO	0	0		
CMEA	0	0		
LaurPyr	0	0		

Avec des fréquences de quantification entre 2% pour le SADP-DMA et 63% pour le DDAC-C₁₀, les tensioactifs cationiques, ont été beaucoup plus retrouvés dans les sédiments que dans les eaux de rivière. La cetylbétaïne, tensioactif zwitterionique, qui n'avait jamais été quantifiée dans les eaux de rivière, a été retrouvée dans 10% des sédiments. Les concentrations moyennes se situent entre 23,5 µg/kg pour le TEAQ-C₁₈ et 828 µg/kg pour le TEAQ-C₁₈ sat.

Ces résultats sont cohérents avec la littérature qui rapporte une forte affinité des tensioactifs cationiques pour la phase particulaire (Margot et al. 2015). A notre connaissance, aucune donnée d'occurrence dans les sédiments n'est disponible pour les TEAQ, SADP-DMA et cetylbétaïne. Les concentrations en cetylbétaïne sont fortement corrélées à celles des BAC (Figure 77). Ces derniers ont été quantifiés dans plus de 20% des sédiments à des concentrations moyennes de 80 $\mu\text{g/kg}$ pour le BAC- C_{18} et 339 $\mu\text{g/kg}$ pour le BAC- C_{12} . Ces concentrations sont élevées mais restent en dessous des PNEC et sont conformes à la littérature (Li et al. 2018, Martinez-Carballo et al. 2007a).

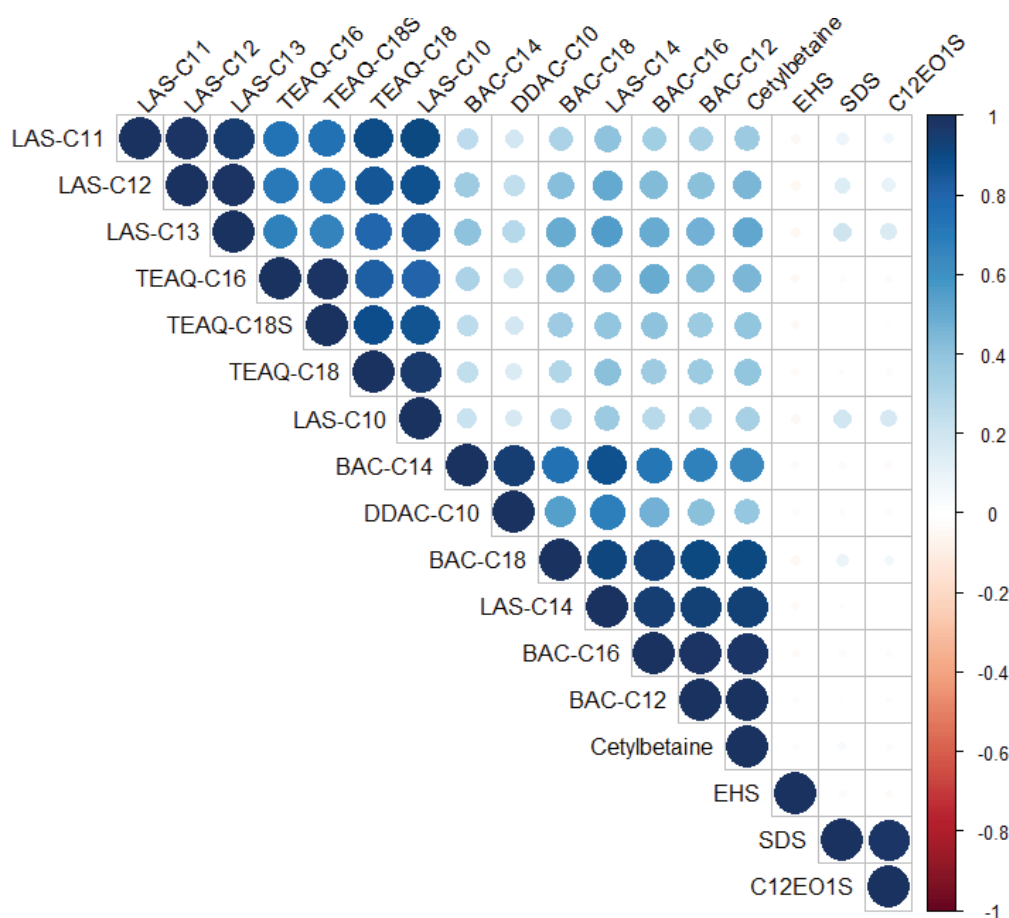


Figure 77: Matrice de corrélation des tensioactifs dans les sédiments (R package « corrplot » (Wei & Simko (2017))

La distribution des différents homologues des BAC (Figure 78) est conforme avec l'étude de Dai et al. 2018. Elle montre l'utilisation majoritaire des homologues en C_{12} et C_{14} par rapport aux C_{16} et C_{18} . La fréquence de quantification du BAC- C_{18} est légèrement supérieure à celle du BAC- C_{16} , en raison de sa plus grande hydrophobicité.

Les concentrations en DDAC-C₁₀, tensioactif le plus fréquemment quantifié dans les sédiments sont également corrélées avec les BAC, en particulier avec le BAC-C₁₄. Enfin, les concentrations des homologues de TEAQ sont fortement corrélées entre elles et de manière plus surprenante, également avec les LAS (p-value < 0,0001 (Harrell 2020)) (Figure 77). Les TEAQ pourraient être les marqueurs de sites fortement pollués. De plus, les concentrations en TEAQ sont bien supérieures à leur PNEC (Tableau 26) et peuvent donc représenter un risque pour l'environnement.

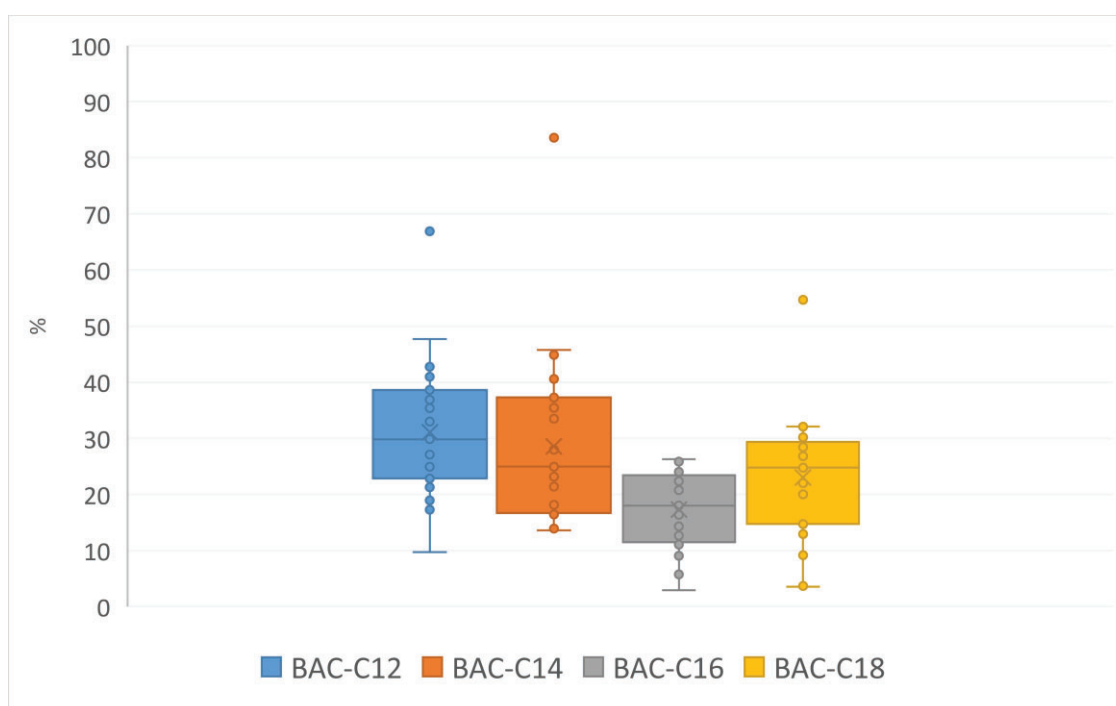


Figure 78: Boxplots de distribution des BAC dans les sédiments

En ce qui concerne les tensioactifs anioniques, les alkyl et alkyl éther sulfates ont été très peu retrouvés, avec des fréquences de quantification entre 0 pour le 2-laureth sulfate et 4%. Malgré ce faible nombre d'échantillons dans lesquels ils ont été détectés, la Figure 77 montre une forte corrélation entre le SDS et le 1-laureth sulfate, comme déjà observé dans les eaux de rivière. Parmi les homologues des alkyl ether sulfate, la présence majoritaire dans les sédiments du SDS et du 1-laureth sulfate a déjà été observée (Sanderson et al. 2006b).

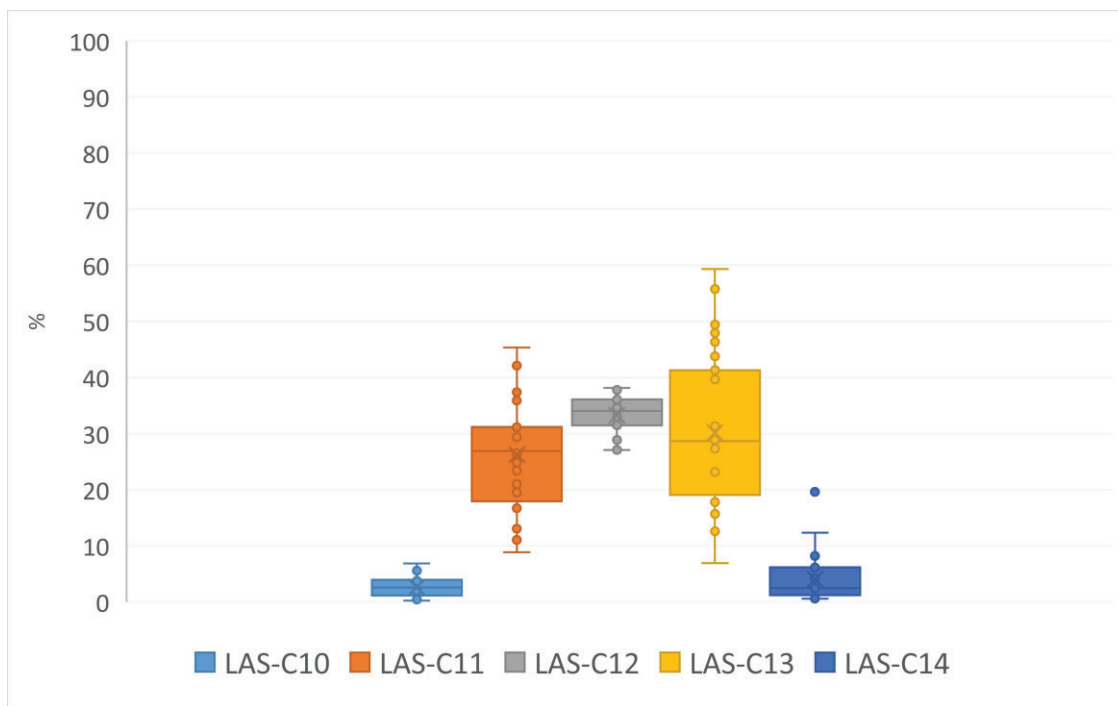


Figure 79: Boxplots de distribution des LAS dans les sédiments

Comme pour les eaux de rivière, les LAS sont les tensioactifs présentant les concentrations les plus élevées, avec des concentrations moyennes supérieures au mg/kg pour les LAS C11 à C13. Ces niveaux élevés de contamination sont conformes à la littérature (Gonzalez et al. 2004, Lara-Martin et al. 2011, Li et al. 2018, Traverso-Soto et al. 2015). La distribution des différents homologues dans les sédiments est différente par rapport à celle de la phase dissoute (Figure 79). Dans les eaux de rivière, l'homologue majoritaire était le LAS C11, tandis qu'il s'agit du LAS C13 dans les sédiments. Ceci peut s'expliquer par la plus grande hydrophobicité du LAS C13. De plus, le LAS C14, homologue le plus hydrophobe, a été quantifié dans 14% des sédiments, contre seulement 4% dans les eaux de rivière. Enfin, les LAS C12 et C13 sont les composés pour lesquels les dépassements de PNEC sont les plus fréquents, respectivement pour 47 et 39% des échantillons de sédiments.

Comme pour les eaux de rivière, afin d'évaluer le potentiel impact écotoxicologique des tensioactifs, il est utile de comparer les concentrations retrouvées avec les PNEC. Le Tableau 34 présente les rapports entre concentrations moyenne et maximum et les PNEC. Sept substances présentent des rapports entre concentrations moyennes et PNEC supérieurs à 1 : les LAS C11 à C13, le 1-laureth sulfate et les TEAQ-C₁₆ et C₁₈.

Tableau 34: Fréquence de quantification et rapports entre les concentrations moyennes et maximum et les PNEC dans les sédiments de rivière

Substance	Fréquence de quantification (%)	Concentration moyenne / PNEC	Concentration maximum / PNEC
TEAQ-C ₁₈ sat.	10	828	1960
C ₁₂ EO ₁ S	4	57	62
TEAQ-C ₁₆	12	49	75
LAS C13	57	32	241
TEAQ-C ₁₈	8	24	37
LAS C12	55	20	161
LAS C11	55	3,6	34
LAS C10	41	0,4	3,0
Cetylbetaine	10	0,3	1,1
SDS	4	0,2	0,2
EHS	4	0,1	0,2
DDAC-C ₁₀	63	0,1	1,4
BAC-C ₁₆	20	0	0,2
BAC-C ₁₈	24	0	0,1
BAC-C ₁₂	41	0	0,4
BAC-C ₁₄	43	0	0,2
SADP-DMA	2	0	0
TMDD	0	0	0
C ₁₂ EO ₂ S	0	0	0
OP ₇₋₁₁ EO	0	0	0
CMEA	0	0	0
LaurPyr	0	0	0
LAS C14	14	nd	nd

Sur ces 7 substances, seuls les LAS C11 à C13 ont des fréquences de quantification supérieures à 50%. Comme pour les eaux de rivière, les LAS C11 à C13 représentent donc un risque significatif pour les écosystèmes dans le compartiment sédiment. En ce qui concerne le 1-laureth sulfate et les TEAQ, les fréquences de quantification se situent entre 4 et 12%. Ces substances représentent donc un risque pour l'environnement, mais seulement sur quelques sites.

2.3- Matières en suspension

Le protocole analytique développé (Annexe 5) a également été appliqué à neuf échantillons de particules en suspension. Les résultats sont résumés dans le Tableau 35.

Tableau 35: Fréquence de quantification, concentrations moyennes et maximum des tensioactifs dans les matières en suspension

Substance	Nombre d'échantillons >LQ (n=9)	Fréquence de quantification (%)	Concentration moyenne (µg/kg)	Concentration maximum (µg/kg)
DDAC-C ₁₀	9	100	339	1000
LAS C13	9	100	1575	6800
LAS C11	9	100	627	2440
LAS C12	9	100	1146	4740
BAC-C ₁₄	9	100	79	236
LAS C10	9	100	50,3	167
TEAQ-C ₁₈ sat.	8	89	343	1160
BAC-C ₁₂	7	78	115	300
BAC-C ₁₈	6	67	49,8	82,2
LAS C14	3	33	243	406
SADP-DMA	3	33	125	252
BAC-C ₁₆	2	22	50,0	69,6
TEAQ-C ₁₆	2	22	165,0	236
TEAQ-C ₁₈	2	22	21,1	28,8
C ₁₂ EO ₁ S	2	22	285	332
SDS	2	22	184	218
C ₁₂ EO ₂ S	2	22	450	758
Cetylbétaïne	1	12	21,2	21,2
EHS	0	0		
TMDD	0	0		
OP ₇₋₁₁ EO	0	0		
CMEA	0	0		
LaurPyr	0	0		

Globalement, les fréquences de quantification et concentrations sont très proches de celles retrouvées dans les sédiments. Ces MES ont été prélevés sur trois sites du bassin Rhin Meuse, sur lesquels les eaux de surface ont également été prélevées. Ainsi, il est possible d'étudier la répartition dissous/particulaire.

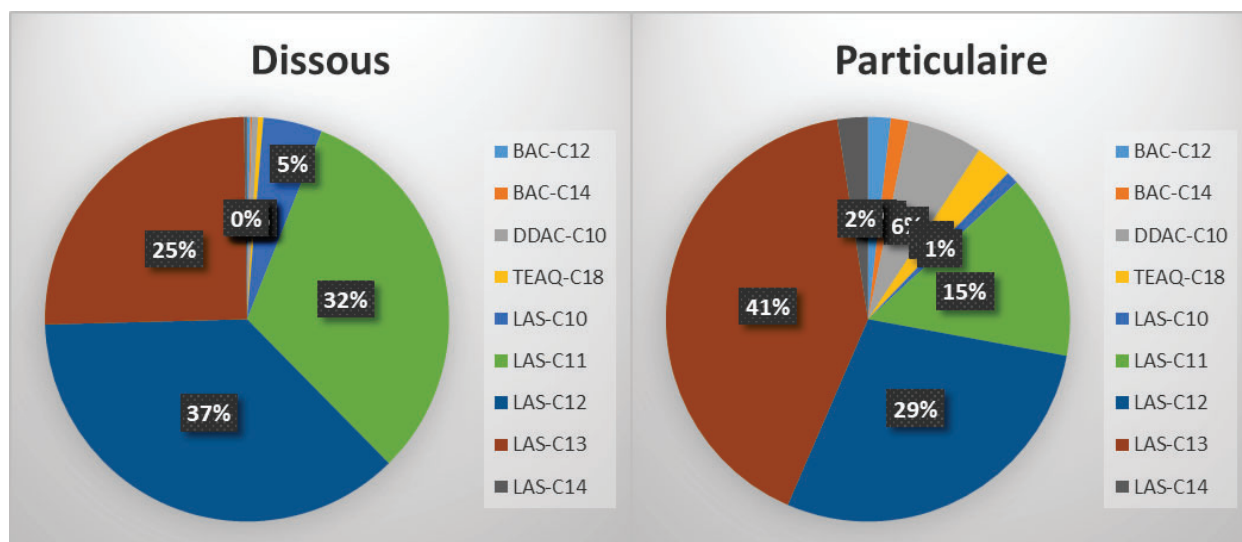


Figure 80: Pourcentages par rapport à la concentration totale en tensioactifs dans la fraction dissoute et particulaire d'un échantillon

Deux principales observations peuvent être tirées de la Figure 80. D'une part, la présence des tensioactifs cationiques, BAC, DDAC et TEAQ, presque uniquement dans la fraction particulaire. D'autre part, malgré cela, que ce soit dans la fraction dissoute ou particulaire, les tensioactifs majoritaires sont les LAS, en particulier les homologues C11, C12 et C13.

Enfin, grâce au dopage de chaque échantillon avec 3 étalons isotopiquement marqués, l'impact de la matrice sur les performances de notre protocole analytique a pu être évalué. La Figure 81 montre les boxplots des aires des étalons marqués dans les sédiments et les matières en suspension. HexPyr-d5 et BDDA-d5 sont des tensioactifs cationiques, détectés en ESI positive. Pour ces deux composés, les tendances sont différentes. Les aires du BDDA-d5 sont très proches entre les 2 matrices. Par contre, les aires du HexPyr-d5 sont plus élevées et plus variables dans les MES que dans les sédiments. Les MES étant des matrices plus chargées que les sédiments, les interférences peuvent engendrer des suppressions ou des augmentations de signal, appelées également effets de matrice.

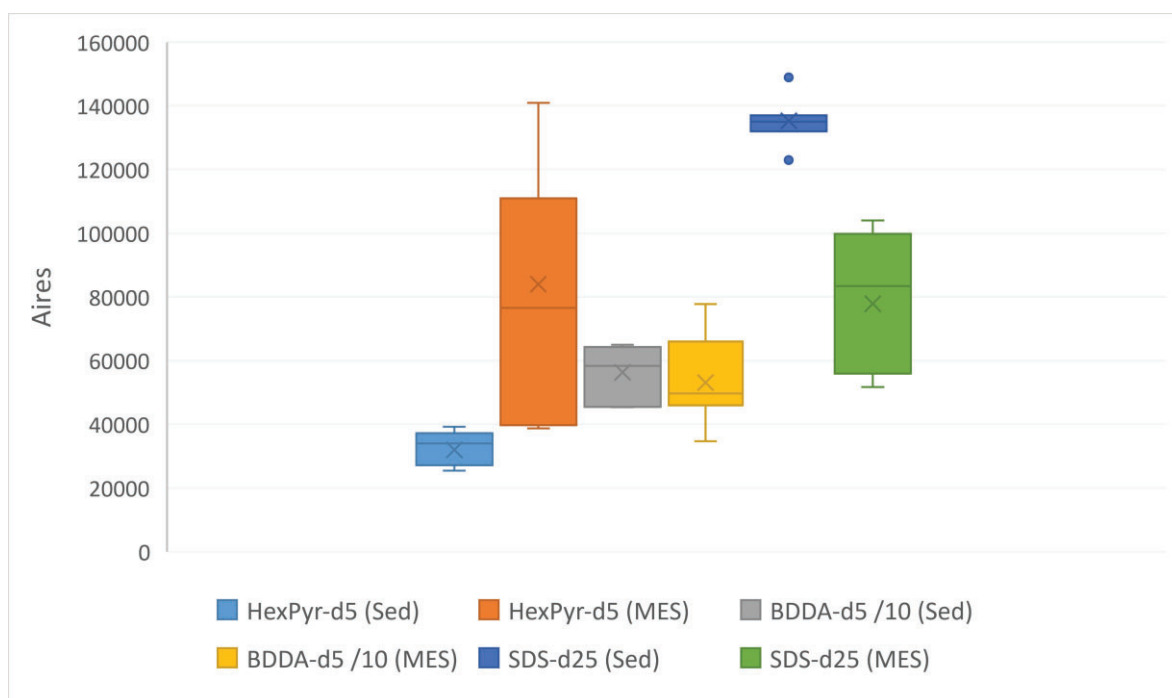


Figure 81: Comparaison des aires des étalons marqués dans les sédiments (Sed) et les matières en suspension (MES)

La matrice MES engendrerait donc un effet matrice positif sur l'HexPyr-d5. Par contre, en ce qui concerne le SDS-d25, tensioactif anionique détecté en ESI négative, les aires sont plus faibles et plus variables dans les MES que dans les sédiments. Ces observations montrent donc que des effets matrice sont induits par les MES et qu'une étape de purification supplémentaire serait nécessaire.

2.4- Boues de station d'épuration

Le protocole analytique développé (Annexe 5) a également été appliqué à sept boues de station d'épuration en passant d'une concentration de l'échantillon dans l'extrait de 500 mg/mL dans le protocole sédiment, à 100 mg/mL pour les boues. Malgré cela, les concentrations dans les boues étant très élevées pour certains composés, une dilution par 20, et par 50 pour le TMDD, a été nécessaire afin de ne pas saturer l'instrument de LC-MS/MS et réussir à quantifier correctement les composés. Les résultats d'analyse des tensioactifs sont résumés dans le Tableau 36.

Tableau 36: Fréquence de quantification, concentrations moyennes et maximum des tensioactifs dans les boues de station d'épuration

Substance	Nombre d'échantillons >LQ (n=7)	Fréquence de quantification (%)	Concentration moyenne (µg/kg)	Concentration maximum (µg/kg)
DDAC-C ₁₀	7	100	122746	756000
LAS C13	7	100	121857	540000
LAS C12	7	100	114269	564000
LAS C11	7	100	92954	494000
BAC-C ₁₂	7	100	40400	148000
TMDD	7	100	13979	32300
BAC-C ₁₄	7	100	10205	37000
LAS C10	7	100	7272	38600
SDS	7	100	2951	3500
C ₁₂ EO ₁ S	7	100	2540	4960
C ₁₂ EO ₂ S	7	100	1803	2250
BAC-C ₁₆	7	100	484	1060
TEAQ-C ₁₆	4	57	6050	11700
TEAQ-C ₁₈ sat.	4	57	3161	5612
Cetylbétaïne	5	71	1860	4460
TEAQ-C ₁₈	3	43	1499	2690
LAS C14	2	29	863	1560
BAC-C ₁₈	2	29	709	980
EHS	0	0		
SADP-DMA	0	0		
OP ₇₋₁₁ EO	0	0		
CMEA	0	0		
LaurPyr	0	0		

Malgré des limites de quantification plus élevées dues aux modifications du protocole, 18 substances sur les 27 recherchées ont été quantifiées, à des concentrations moyennes entre 484 µg/kg pour le BAC-C₁₆ à 122 mg/kg pour le DDAC-C₁₀ et le LAS C13 (Tableau 36). Comme dans les matrices eaux, sédiments et MES, deux composés, LaurPyr et CMEA sont peu voire pas quantifiés. Les TEAQ et la cetylbétaïne, très peu détectés dans les eaux de rivière, ont été quantifiés dans plus de 40% des échantillons de boues. De plus, 12 de ces composés ont été

retrouvés dans tous les échantillons, montrant ainsi la pertinence des tensioactifs ciblés. Il s'agit des BAC, LAS, lauryl et laureth sulfates et le DDAC-C₁₀ et TMDD. Ces résultats montrent donc que la majorité des tensioactifs ciblés ne sont pas ou peu dégradés dans les stations d'épuration mais ils sont adsorbés dans les boues, représentant un risque de contamination des sols lors des épandages.

Enfin, comme pour les sédiments (voir Chapitre III, section 2.2) afin d'évaluer les effets matrice et de valider la pertinence de la calibration dans la matrice sable de Fontainebleau, six échantillons de boues ont été extraits et analysés, puis les concentrations des tensioactifs calculées par calibration dans la matrice et ajouts dosés. La Figure 82 présente des exemples de résultats obtenus par ajouts dosés.

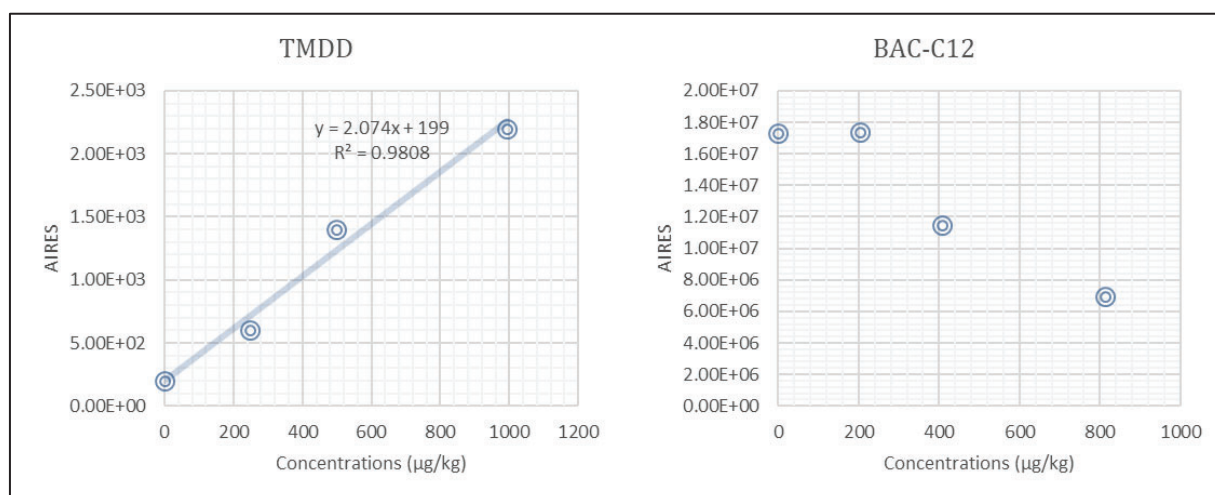


Figure 82: Calibration par ajouts dosés d'un échantillon de boues

Les concentrations obtenues par ajouts dosés sont cohérentes avec celles de la calibration dans la matrice pour les tensioactifs anioniques et non-ioniques. Par contre, en ce qui concerne les tensioactifs cationiques, comme par exemple le BAC-C₁₂ (Figure 82), la calibration par ajouts dosés s'avère impossible. De plus, les aires des BAC-C₁₂, C₁₄ et DDAC-C₁₀ présentent des tendances similaires. Le même phénomène a récemment été observé par Didier Stien (Stien 2021) pour l'analyse de filtres solaires dans du sable et il l'explique par la présence de ces substances à de fortes concentrations et par un manque d'homogénéisation de l'échantillon.

Principaux résultats du chapitre IV

Application à des échantillons réels

- Principalement des tensioactifs anioniques, dont le bruit de fond dans les blancs méthode est déjà élevé, ont été quantifiés dans les blancs terrain.
- Dans les eaux de surface, sur les 25 substances analysées, une seule n'a jamais été détectée : la cetylbétaïne, un tensioactif zwitterionique. Les LAS C10 à C13 sont les tensioactifs présentant à la fois les fréquences de quantification et les concentrations les plus élevées. Les homologues les plus quantifiées sont les LAS C11 et C12, avec des fréquences de quantification respectives de 89 et 86% et des concentrations moyennes supérieures à 2 µg/L.
- Dans les eaux traitées de STEU, on observe des tendances similaires aux eaux de surface, à savoir des fréquences de quantification faibles voire nulles pour les tensioactifs cationiques, moyennes pour les non-ioniques et élevées pour les anioniques.
- Dans les sédiments de rivière, sur les 27 substances tensioactives recherchées, 9 n'ont pas été détectées : une cationique LaurPyr, une anionique, 2-laureth sulfate, et tous les tensioactifs non-ioniques ciblés, OP₇₋₁₁EO, CMEA et TMDD. Les tensioactifs présentant les fréquences de quantification les plus élevées sont les BAC, DDAC et LAS. Les concentrations en TEAQ sont bien supérieures à leur PNEC et peuvent donc représenter un risque pour l'environnement.
- Les profils de contamination par les tensioactifs des MES et boues sont cohérents avec ceux des sédiments.
- Les LAS C11 à C13 présentent à la fois des fréquences de quantification et des rapports concentrations moyennes sur PNEC élevés, dans les eaux et les sédiments de rivière. Ils représentent donc un risque significatif pour les écosystèmes.

Conclusions et perspectives

Le nombre de nouveaux produits chimiques mis sur le marché augmente chaque année. De surcroît, ils deviennent de plus en plus complexes et les formulations contiennent des mélanges d'éléments et de molécules qui sont finalement disséminés et/ou accumulés partout, y compris dans les déchets, les sols, l'eau, l'air, les plantes, les aliments, les animaux et le corps humain. Une fois introduits dans les milieux récepteurs, ces substances sont alors appelées micropolluants. La surveillance de ces composés dans l'environnement s'est accrue ces 20 dernières années, en particulier grâce aux avancées technologiques des techniques analytiques telles que la spectrométrie de masse. Parmi ces micropolluants, les tensioactifs présentent quelques particularités.

Tout d'abord, les tensioactifs sont des mélanges complexes d'homologues et isomères dont la composition dépend des matières premières et des procédés de synthèse utilisés. De ce fait, les structures chimiques de certaines familles de tensioactifs sont plus ou moins caractérisées et leurs étalons sous forme de substance pure ne sont parfois pas disponibles commercialement. De plus, certains tensioactifs sont utilisés en très grandes quantités, ce qui peut faire craindre une « pseudo-persistance » dans l'environnement. Par exemple, les LAS, les Sodium Lauryl Ether Sulfate (SLES) et les TEA esterquats (TEAQ), qui sont produits/importés en Europe à des tonnages supérieurs à 100 000 par an, présentent des concentrations élevées dans les eaux usées brutes, supérieures à 100 µg/L. Les domaines d'application de ces tensioactifs sont extrêmement variés, allant du domestique à l'industriel, en passant par l'agricole et l'hospitalier, ce qui suggère un grand nombre de sources de transfert vers l'environnement. Les données concernant leur occurrence sont très hétérogènes selon les familles : les LAS, AES, AS, APEO et BAC et DDAC ont été recherchés dans de nombreuses études, mais celles-ci ne concernent qu'un nombre restreint d'homologues ou isomères. Concernant les autres familles de tensioactifs, le nombre de données est faible voire nul dans le milieu récepteur. Enfin, leurs structures chimiques sont très variées et étant amphiphiles, ils peuvent être présents à la fois dans les fractions dissoutes et particulières des rivières.

Afin d'améliorer nos connaissances sur ces composés, des méthodologies analytiques permettant la quantification simultanée de plusieurs familles de tensioactifs sont nécessaires. Les molécules ciblées dans notre étude comprennent à la fois des tensioactifs anioniques (9 substances), non-ioniques (7 substances) et cationiques (11 substances), soit un total de 27 molécules individuelles à analyser, qui appartiennent à 12 familles chimiques de tensioactifs. Dans un premier temps, leur détection par chromatographies liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem a été optimisée. Deux injections sont nécessaires : l'une par electrospray positif pour les tensioactifs cationiques et non-ioniques et l'autre par electrospray négatif pour les tensioactifs anioniques. Les tensioactifs possédant à la fois des fonctions hydrophobes et ioniques, ils peuvent à la fois créer des interactions hydrophobes ou ioniques avec les phases stationnaires de chromatographie liquide. Deux modes de rétention ont donc été comparés : une méthode basée sur une colonne combinant interactions hydrophobes et échanges anioniques et la seconde sur une colonne en silice greffée C18. C'est cette dernière qui a donné les meilleures performances. Au cours de cette optimisation, des contaminations dans les blancs analytiques à des concentrations de 0,1 µg/L pour le DDAC-C₁₀ à 3 µg/L pour le SDS ont été observées. Les limites de quantification instrumentales obtenues se situent entre 0,2 et 30 µg/L et sont environ 100 fois trop élevées par rapport aux concentrations habituellement recherchées dans les eaux de surface. Il s'est donc avéré nécessaire de mettre au point une étape de préconcentration.

Pour cette étape, la technique la plus utilisée est l'extraction sur phase solide (SPE). Trois types de phases solides ont été comparées: une phase polymérique alliant groupements hydrophobes et hydrophiles, OasisTM HLB (Waters©), qui est la phase majoritairement utilisée pour l'extraction des tensioactifs, une phase silice greffée C18, Strata-C18-ETM (Phenomenex©) et une phase qui allie interactions hydrophobes et échanges anioniques, composée de silice greffée C8 et aminopropyl, Cunax2TM (United Chemical Technologies©). Finalement, la phase optimale est différente pour chaque type de tensioactif : Cunax2 pour les anioniques, Strata-C18-E pour les non-ioniques et Oasis HLB pour les cationiques. Mais, globalement, c'est l'Oasis HLB qui permet d'obtenir les meilleurs rendements. Des contaminations des blancs méthodes ont été observées, en particulier concernant les LAS, les OPEO et les TEAQ. Différentes stratégies ont été testées afin de réduire ces contaminations, parmi lesquelles, la calcination des filtres en fibre de verre, le rinçage du système de filtration à l'eau minérale et la calcination des tubes d'élution se sont avérés les plus efficaces. La validation du protocole

finalisé donne des résultats satisfaisants. Les limites de quantification obtenues, entre 0,015 µg/L pour le LAS C10 et 0,485 µg/L, pour le SDS sont compatibles avec l'analyse des eaux de surface.

Les tensioactifs étant présents à la fois dans les fractions dissoutes et particulaires des rivières, il est indispensable de développer des méthodes d'extraction de ces composés dans les sédiments. Deux types d'extraction, l'extraction solide-liquide assistée par les sels et vortex et l'extraction assistée par ultrasons ont été comparées, d'abord en matière de contamination des blancs méthode, puis en matière d'efficacité d'extraction. Différents solvants organiques et l'ajout d'acide et EDTA ont également été testés. Hormis pour les tensioactifs anioniques, aucune condition d'extraction n'est optimale pour toutes les substances ciblées. Cependant, l'extraction assistée par ultrasons avec le mélange 90/10 acétonitrile à 1% d'acide acétique / eau à 0,1 M EDTA donne globalement les meilleurs résultats. La validation du protocole finalisé montre des performances satisfaisantes en matière de sensibilité, linéarité, précision et justesse. Les limites de quantification obtenues, entre 6,4 µg/kg pour le LAS C10 et 158 µg/kg pour le 1-laureth sulfate sont compatibles avec l'analyse des sédiments.

Enfin, une application exhaustive des protocoles finalisés a été réalisée, en s'appuyant sur des prélèvements d'échantillons réalisés dans le cadre de la campagne Emergents Nationaux (EMNAT) 2018. Dans les eaux de surface, sur les 25 substances analysées, une seule n'a jamais été détectée : la cetylbétaïne, un tensioactif zwitterionique. Les LAS C10 à C13 sont les tensioactifs présentant à la fois les fréquences de quantification et les concentrations les plus élevées. Les homologues les plus quantifiés sont les LAS C11 et C12, avec des fréquences de quantification respectives de 89 et 86% et des concentrations moyennes supérieures à 2 µg/L. La réalisation de blancs terrains a montré la présence de tensioactifs, principalement des anioniques, dont le bruit de fond dans les blancs méthode est déjà élevé. Cependant, les concentrations retrouvées ne semblent pas compromettre les résultats d'analyse des échantillons d'eau de rivière. Dans les eaux traitées de STEU, on observe des tendances similaires aux eaux de surface, à savoir des fréquences de quantification faibles voire nulles pour les tensioactifs cationiques, moyennes pour les non-ioniques et élevées pour les anioniques.

Concernant la fraction particulaire des rivières, dans les sédiments de rivière, sur les 27 substances tensioactives recherchées, 9 n'ont pas été détectées : une cationique LaurPyr, une anionique, 2-laureth sulfate, et tous les tensioactifs non-ioniques ciblés, OP₇₋₁₁EO, CMEA et TMDD. Les tensioactifs présentant les fréquences de quantification les plus élevées sont les BAC, DDAC et LAS. Les concentrations en TEAQ sont bien supérieures à leur PNEC et peuvent donc représenter localement un risque pour l'environnement. Les profils de contamination par les tensioactifs des matières en suspension et des boues sont cohérents avec ceux des sédiments. Des concentrations extrêmement élevées des tensioactifs dans les boues, de l'ordre du mg/kg, révèlent qu'ils ne sont pas ou peu dégradés dans les stations d'épuration mais adsorbés dans les boues, représentant un risque de contamination des sols lors des épandages. Enfin, que ce soit dans les eaux de rivière ou les sédiments, les LAS C11 à C13 présentent à la fois des fréquences de quantification et des rapports concentrations moyennes sur PNEC élevés, et représentent donc un risque significatif pour les écosystèmes.

Cette étude a révélé de nombreux défis à relever. Une des premières difficultés rencontrées a été de simplement trouver des données sur les structures chimiques des tensioactifs, compte-tenu des nombreux isomères et homologues. Une étude très complète du Dr Wang a récemment été publiée sur ce sujet (Wang et al. 2020). Plus de 350 000 composés et mélanges de substances chimiques ont été référencés parmi lesquels l'identité de nombreux produits chimiques reste inconnue du public parce qu'ils sont déclarés confidentiels (plus de 50 000) ou décrits de manière ambiguë (jusqu'à 70 000). De plus, elle met en avant les incertitudes liées aux classifications des produits chimiques, notamment les n°CAS. Si la majorité des n° CAS se réfèrent à des substances chimiques individuelles, un sous-ensemble important (plus de 75 000) se réfère à des mélanges, des polymères et des UVCB, abréviation récente signifiant « Substance of Unknown or Variable composition, Complex reaction products or Biological materials ». Actuellement, il n'est pas possible de déterminer le nombre total de produits chimiques individuels inclus dans ces mélanges, polymères et UVCB, car la composition de nombre d'entre eux n'est pas claire dans le domaine public, ce qui est le cas pour un grand nombre de familles de tensioactifs.

D'un point de vue analytique, la méthode de préparation d'échantillon pour les matrices liquides mises au point présente un inconvénient majeur : elle nécessite le transport de litres d'eaux. La miniaturisation de cette étape permettrait d'une part de diminuer la prise d'essai, et d'autre part

de pouvoir réaliser l'extraction in-situ. De plus en plus de méthodes de microextraction sont mises au point, parmi lesquelles des SPE miniaturisées dans des embouts de micropipettes (Mozafer Bordin et al. 2016, Shen et al. 2016). Plus récemment, un prototype portable mettant en jeu ce type de microextraction a été conçu pour le prétraitement d'échantillons in situ, en vue de l'analyse d'estrogènes (Chen et al. 2018). D'autre part, nous avons fait le choix dans cette étude de développer une méthode d'analyse multi-résidus permettant la quantification simultanée de tensioactifs aux propriétés physico-chimiques très diverses. Nous avons pu voir, notamment lors du développement de la préparation d'échantillons, que cette stratégie impose des compromis qui conduisent à sélectionner des conditions qui ne sont pas optimales pour la majorité des composés. Cependant l'application à de nombreux échantillons a montré que les méthodes développées ont des performances compatibles avec l'analyse de traces de tensioactifs dans l'environnement. Ces méthodologies devraient donc pouvoir être utilisées pour de futures campagnes de surveillance des tensioactifs dans l'environnement. De plus, ces méthodes, qui montrent de bonnes performances pour les tensioactifs anioniques, non ioniques et cationiques, pourraient être facilement adaptées à l'analyse d'autres tensioactifs.

L'application des méthodes d'analyse développées aux échantillons de la campagne EMNAT a montré la présence ubiquitaire des tensioactifs, dans tous les compartiments, y compris dans nos matériaux et instruments d'analyse. De plus, certains tensioactifs, notamment les LAS présentent des concentrations supérieures aux PNEC. Ces données vont pouvoir être utilisées par le « Comité Expert Priorisation » (Dulio & Andrès 2012) pour incrémenter les listes de substances des futurs programmes de surveillance des micropolluants. Cependant, déterminer les risques liés à notre exposition quotidienne à ces composés et à beaucoup d'autres paraît impossible. Une stratégie prometteuse serait d'analyser non pas les micropolluants eux-mêmes mais les biomarqueurs d'exposition à ses composés (Hernandez-Mesa et al. 2021), c'est ce qu'on appelle la métabolomique. Les principales techniques analytiques mises en œuvre dans ce domaine sont la RMN et la spectrométrie de masse haute-résolution (HRMS), notamment la LC-HRMS et la GC-HRMS.

Enfin, de plus en plus de solutions de réduction de cette pollution à la source sont proposées (Chèvre 2020). D'une part, l'utilisation de telles quantités de tensioactifs s'avère de moins en moins indispensable, y compris dans les hôpitaux. Cette réflexion est notamment portée en France par le Dr Philippe Carencu qui incite à développer des méthodes de nettoyage sans

produits chimiques dans les établissements de soins, comme le nettoyage vapeur, ce qui permet de réduire très rapidement et drastiquement l'utilisation des détergents et biocides (Carenco 2019). Dans le domaine domestique également, des alternatives aux tensioactifs existent et ont été testées avec succès par exemple dans le dispositif « Famille Eau Défi » du projet REGARD (Gombert-Courvoisier & Krieger 2019). Enfin, globalement, le souci du devenir des produits chimiques pourrait être intégré dès la conception de ceux-ci. C'est une des solutions proposées dans l'étude de Kümmerer et al. 2020, dans laquelle les chimistes sont invités à concevoir des substances intégrant des fonctions chimiques facilement biodégradables et des produits finaux ayant une composition aussi simple que possible, en réduisant au minimum les additifs et en évitant les substances les plus toxiques. Cette dernière solution accompagnée d'une réglementation forte lors de la mise sur le marché des produits chimiques (Barrault & Dumas 2019), pourrait permettre de réduire l'émission des substances chimiques dans l'environnement, et donc l'exposition des espèces vivantes à ces micropolluants.

Références bibliographiques

- Abril C, Luis Santos J, Luis Malvar J, Martin J, Aparicio I, Alonso E (2018): Determination of perfluorinated compounds, bisphenol A, anionic surfactants and personal care products in digested sludge, compost and soil by liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1576, 34-41
- Acir I-H, Guenther K (2018): Endocrine-disrupting metabolites of alkylphenol ethoxylates - A critical review of analytical methods, environmental occurrences, toxicity, and regulation. *Science of the Total Environment* 635, 1530-1546
- ADEME (2001): Tensioactifs et oléagineux, étude sur les matières premières oléagineuses disponibles sur le marché européen pour la production de tensioactifs, 81 p. https://www.ademe.fr/sites/default/files/assets/documents/35263_tensioactietude.pdf
- AFNOR 2009 NF T90-210 - Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation initiale des recoveries d'une méthode dans un laboratoire - mai 2009 - AFNOR, 2009.
- Andreu V, Ferrer E, Rubio JL, Font G, Pico Y (2007): Quantitative determination of octylphenol, nonylphenol, alkylphenol ethoxylates and alcohol ethoxylates by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-mass spectrometry in soils treated with sewage sludges. *Science of the Total Environment* 378, 124-129
- Backe WJ, Field JA (2012): Is SPE Necessary for Environmental Analysis? A Quantitative Comparison of Matrix Effects from Large-Volume Injection and Solid-Phase Extraction Based Methods. *Environmental Science & Technology* 46, 6750-6758
- Barber LB, Loyo-Rosales JE, Rice CP, Minarik TA, Oskouie AK (2015): Endocrine disrupting alkylphenolic chemicals and other contaminants in wastewater treatment plant effluents, urban streams, and fish in the Great Lakes and Upper Mississippi River Regions. *Science of the Total Environment* 517, 195-206
- Barrault J, Dumas L (2019) : Les enjeux globaux des micropolluants. Livrable de la tâche 1.2.1 du projet REGARD - 57p. https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/2020-01/REGARD_Livrable_Tache-1-2_Enjeux-globaux-des-micropolluants_V2019-10-23_definitive.pdf
- Becagli S, Ghedini C, Peeters S, Rottiers A, Traversi R, Udisti R, Chiari M, Jalba A, Despiiau S, Dayan U, Temara A (2011): MBAS (Methylene Blue Active Substances) and LAS (Linear Alkylbenzene Sulphonates) in Mediterranean coastal aerosols: Sources and transport processes. *Atmospheric Environment* 45, 6788-6801
- Bergé A, Cladiere M, Gasperi J, Coursimault A, Tassin B, Moilleron R (2012): Meta-analysis of environmental contamination by alkylphenols. *Environmental Science and Pollution Research* 19, 3798-3819
- Bergé A, Giroud B, Wiest L, Domenjoud B, Gonzalez-Ospina A, Vulliet E (2016): Development of a multiple-class analytical method based on the use of synthetic matrices for the simultaneous determination of commonly used commercial surfactants

- in wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1450, 64-75
- Bergé A, Wiest L, Baudot R, Giroud B, Vulliet E (2018): Occurrence of multi-class surfactants in urban wastewater: contribution of a healthcare facility to the pollution transported into the sewerage system. *Environmental Science and Pollution Research* 25, 9219-9229
- Bergfeld WF, Belsito DV, Carlton WW, Klaassen CD, Schroeter AL, Shank RC, Slaga TJ (1999): Final report on the safety assessment of Cocamide MEA. *International Journal of Toxicology* 18, 9-16
- Bidari A, Ganjali MR, Norouzi P (2010): Development and evaluation of a dispersive liquid-liquid microextraction based test method for quantitation of total anionic surfactants: advantages against reference methods. *Central European Journal of Chemistry* 8, 702-708
- Botta F, Dulio V (2014) : Résultats de l'étude prospective 2012 sur les contaminants émergents dans les eaux de surface continentales de la métropole et des DOM. Rapport Final, DRC-13-136939-12927A, 139 pp.
- Brack W et al. (2017): Towards the review of the European Union Water Framework Directive: Recommendations for more efficient assessment and management of chemical contamination in European surface water resources. *Science of the Total Environment* 576, 720-737
- Brycki BE, Kowalczyk IH, Szulc A, Kaczerewska O, Pakiet M (2017): Multifunctional Gemini Surfactants: Structure, Synthesis, Properties and Applications, Application and Characterization of Surfactants, Reza Najjar, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.68755.
- Brownawell BJ, Chen H, Collier JM, Westall JC (1990): Adsorption of organic cations to natural materials. *Environmental Science & Technology* 24, 1234-1241
- Bure C, Lange C (2003): Comparison of dissociation of ions in an electrospray source, or a collision cell in tandem mass spectrometry. *Current Organic Chemistry* 7, 1613-1624
- Cantarero S, Zafra-Gomez A, Ballesteros O, Navalon A, Vilchez JL, Verge C, De Ferrer JA (2011): Matrix effect study in the determination of linear alkylbenzene sulfonates in sewage sludge samples. *Environmental Toxicology and Chemistry* 30, 813-818
- Carasek E, Mores L, Merib J (2018): Basic principles, recent trends and future directions of microextraction techniques for the analysis of aqueous environmental samples. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 19
- Carenco P (2019): Une démarche régionale de sensibilisation et d'accompagnement au changement dans les établissements de soin. Actes de la 7^{ème} conférence Eau et Santé. http://www.graie.org/Sipibel/docs/Actes_Eau-et-Sante19_web.pdf
- Chamkasem N, Harmon T (2016): Direct determination of glyphosate, glufosinate, and AMPA in soybean and corn by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 408, 4995-5004
- Chen L, Pei J, Huang X, Lu M (2018): Polymeric ionic liquid-based portable tip microextraction device for on-site sample preparation of water samples. *Journal of Chromatography A* 1564, 34-41

- Chèvre N, Erkman N (2011): Alerte aux micropolluants, pesticides, biocides, détergents, médicaments et autres substances chimiques dans l'environnement, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.
- Chèvre N (2020): Un monde sans chimie de synthèse? Le Courrier, <https://lecourrier.ch/2020/08/30/un-monde-sans-chimie-de-synthese%E2%80%8A/>
- Ciofi L, Ancillotti C, Chiuminatto U, Fibbi D, Pasquini B, Bruzzoniti MC, Rivoira L, Del Bubba M (2016): Fully automated on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the simultaneous analysis of alkylphenol polyethoxylates and their carboxylic and phenolic metabolites in wastewater samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 408, 3331-3347
- Clara M, Scharf S, Scheffknecht C, Gans O (2007): Occurrence of selected surfactants in untreated and treated sewage. *Water Research* 41, 4339-4348
- Corada-Fernandez C, Gonzalez-Mazo E, Lara-Martin PA (2018): Evaluation of the anaerobic biodegradation of linear alkylbenzene sulfonates (LAS) using OECD 308 water/sediment systems. *Journal of Hazardous Materials* 360, 24-31
- Cowan-Ellsberry C, Belanger S, Dorn P, Dyer S, McAvoy D, Sanderson H, Versteeg D, Ferrer D, Stanton K (2014): Environmental Safety of the Use of Major Surfactant Classes in North America. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 44, 1893-1993
- Cosmetic Ingredient Review (2012): Fatty Acid Amidopropyl Dimethylamines as Used in Cosmetics, 26 p. <http://www.cir-safety.org>
- Dai X, Wang C, Lam JCW, Yamashita N, Yamazaki E, Horii Y, Chen W, Li X (2018): Accumulation of quaternary ammonium compounds as emerging contaminants in sediments collected from the Pearl River Estuary, China and Tokyo Bay, Japan. *Marine Pollution Bulletin* 136, 276-281
- Daughton CG (2004): Non-regulated water contaminants: emerging research. *Environmental Impact Assessment Review* 24, 711-732
- Dauvergne J (2010): Synthèse et étude physico-chimique de nouveaux tensioactifs utilisables pour la cristallisation 2D sur film lipidique et l'étude des protéines membranaires. Thèse de doctorat. Université d'Avignon, 2010. Français. ffNNT : 2010AVIG0233ff. fftel-00496704f
- DeArmond PD, DiGoregorio AL (2013): Rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry-based method for the analysis of alcohol ethoxylates and alkylphenol ethoxylates in environmental samples. *Journal of Chromatography A* 1305, 154-163
- Di Corcia A, Casassa F, Crescenzi C, Marcomini A, Samperi R (1999): Investigation of the fate of linear alkyl benzenesulfonates and coproducts in a laboratory biodegradation test by using liquid chromatography/mass spectrometry. *Environmental Science & Technology* 33, 4112-4118
- Diez C, Feinberg M, Spoerri AS, Cognard E, Ortelli D, Edder P, Rudaz S (2016): Evaluation of Quantification Methods to Compensate for Matrix Effects in the Analysis of Benzalkonium Chloride and Didecyldimethylammonium Chloride in Fruits and Vegetables by LC-ESI-MS/MS. *Food Analytical Methods* 9, 485-499

- Dollinger J, Schacht VJ, Gaus C, Grant S (2018): Effect of surfactant application practices on the vertical transport potential of hydrophobic pesticides in agrosystems. *Chemosphere* 209, 78-87
- Dsikowitzky L, Botalova O, Illgut S, Bosowski S, Schwarzbauer J (2015): Identification of characteristic organic contaminants in wastewaters from modern paper production sites and subsequent tracing in a river. *Journal of Hazardous Materials* 300, 254-262
- Dulio V., Morin A. (2009) : Les substances émergentes dans l'environnement - Note de synthèse sur l'état de l'art concernant les produits pharmaceutiques, les cosmétiques et les produits d'hygiène corporelle, Réf. : DRC-09-95687-06381C https://www.aquaref.fr/system/files/R_09_06381C_Action29_VF.pdf
- Dulio V, Andrès S (2012) : Référentiel méthodologique pour la priorisation des micropolluants des milieux aquatiques <https://www.aquaref.fr/referentiel-methodologique-priorisation-micropolluants-milieux-aquatiques>
- Dulio V, van Bavel B, Brorstrom-Lunden E, Harmsen J, Hollender J, Schlabach M, Slobodnik J, Thomas K, Koschorreck J (2018): Emerging pollutants in the EU: 10 years of NORMAN in support of environmental policies and regulations. *Environmental Sciences Europe* 30
- ECHA (2019): "Universe of registered substances" <https://echa.europa.eu/fr/universe-of-registered-substances>
- El-Mufleh A, Bechet B, Ruban V, Legret M, Clozel B, Barraud S, Gonzalez-Merchan C, Bedell JP, Delolme C (2014): Review on physical and chemical characterizations of contaminated sediments from urban stormwater infiltration basins within the framework of the French observatory for urban hydrology (SOERE URBIS). *Environmental Science and Pollution Research* 21, 5329-5346
- Escher BI, Stapleton HM, Schymanski EL (2020): Tracking complex mixtures of chemicals in our changing environment. *Science* 367, 388-+
- Feinberg M (2001) : Validation interne des méthodes d'analyse. *Techniques de l'Ingénieur* p224. 23 p.
- Fernandez-Sanjuan M, Rigol A, Sahuquillo A, Rodriguez-Cruz S, Lacorte S (2009): Determination of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates in sewage sludge: effect of sample pre-treatment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 394, 1525-1533
- Fontanals N, Borrull F, Maria Marce R (2020): Mixed-mode ion-exchange polymeric sorbents in environmental analysis. *Journal of Chromatography A* 1609
- Freeling F, Alygizakis NA, von der Ohe PC, Slobodnik J, Oswald P, Aalizadeh R, Cirka L, Thomaidis NS, Scheurer M (2019): Occurrence and potential environmental risk of surfactants and their transformation products discharged by wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment* 681, 475-487
- Gago-Ferrero P, Borova V, Dasenaki ME, Thomaidis NS (2015): Simultaneous determination of 148 pharmaceuticals and illicit drugs in sewage sludge based on ultrasound-assisted extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407, 4287-4297
- Gombert-Courvoisier S, Krieger S (2019) : Rapport sur les interventions auprès des ménages référents et les messages de sensibilisation testés. L'accompagnement au changement de pratiques : Présentation de l'expérimentation citoyenne « Famille Eau Défi », Livrable

- Gonzalez MM, Santos JL, Aparicio I, Alonso E (2010): Method for the simultaneous determination of the most problematic families of organic pollutants in compost and compost-amended soil. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397, 277-285
- Gonzalez MM, Martin J, Camacho-Munoz D, Santos JL, Aparicio I, Alonso E (2012): Degradation and environmental risk of surfactants after the application of compost sludge to the soil. *Waste Management* 32, 1324-1331
- Gonzalez S, Petrovic M, Barcelo D (2004): Simultaneous extraction and fate of linear alkylbenzene sulfonates, coconut diethanol amides, nonylphenol ethoxylates and their degradation products in wastewater treatment plants, receiving coastal waters and sediments in the Catalanian area (NE Spain). *Journal of Chromatography A* 1052, 111-120
- Gonzalez-Curbelo MA, Socas-Rodriguez B, Herrera-Herrera AV, Gonzalez-Salamo J, Hernandez-Borges J, Rodriguez-Delgado MA (2015): Evolution and applications of the QuEChERS method. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 71, 169-185
- Gourlay-Francé C, Delmas F, Mazzella N, Tusseau-Vuillemin, MH (2010) : Que sait-on de la biodisponibilité des contaminants dissous dans le milieu aquatique ?, *Revue Science Eaux & Territoires*, n°1, p. 6-1. Disponible en ligne : <http://www.set-revue.fr/> (consulté le 08/04/2020), DOI : 10.14758/SET-REVUE.2010.1.02.
- Goulas A, Sertillanges N, Brimo K, Garnier P, Bergheaud V, Dumény V, Benoit P, Haudin C-S (2019): Environmental availability of sulfamethoxazole and its acetylated metabolite added to soils via sludge compost or bovine manure. *Science of the Total Environment* 651, 506-515
- Guedez AA, Froemmel S, Diehl P, Puettmann W (2010): Occurrence and temporal variations of TMDD in the river Rhine, Germany. *Environmental Science and Pollution Research* 17, 321-330
- Guedez AA, Puettmann W (2011): Occurrence and fate of TMDD in wastewater treatment plants in Germany. *Water Research* 45, 5313-5322
- Guedez AA, Puttmann W (2014): Printing ink and paper recycling sources of TMDD in wastewater and rivers. *Science of the Total Environment* 468, 671-676
- Guillarme D (2014) : Evolutions majeures en chromatographie liquide. *Techniques de l'Ingénieur* p1494. 13 p.
- Haigh SD (1996): A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil. *Science of the Total Environment* 185, 161-170
- Hari AC, Paruchuri RA, Sabatini DA, Kibbey TCG (2005): Effects of pH and cationic and nonionic surfactants on the adsorption of pharmaceuticals to a natural aquifer material. *Environmental Science & Technology* 39, 2592-2598
- Harrell F.E. Jr, with contributions from Charles Dupont and many others. (2020). Hmisc: Harrell Miscellaneous. R package version 4.4-2. <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>
- Hernandez-Mesa M, Le Bizec B, Dervilly G (2021): Metabolomics in chemical risk analysis – A review. *Analytica Chimica Acta* 1154, 338298

- Hoffmann E. de, Stroobant V (2007): Mass spectrometry: principles and applications. – 3rd ed., John Wiley & Sons Ltd, ISBN 978-0-470-03310-4
- Huber, S., Remberger, M., Goetsch, A., Davanger, K., Kaj, L., Herzke, D., Schlabach, M., Jörundsdóttir, H.Ó., Vester, J., Arnórsson, M., Mortensen, I., Schwartzson, R., Dam, M., (2013). Pharmaceuticals and additives in personal care products as environmental pollutants in Faroe Island, Iceland and Greenland. *Tema:Nord* 2013:541. Denmark, Copenhagen, <http://dx.doi.org/10.6027/TN2013-541>
- Huber S, Remberger M, Kaj L, Schlabach M, Jorundsdottir HO, Vester J, Arnorsson M, Mortensen I, Schwartzson R, Dam M (2016): A first screening and risk assessment of pharmaceuticals and additives in personal care products in waste water, sludge, recipient water and sediment from Faroe Islands, Iceland and Greenland. *Science of the Total Environment* 562, 13-25
- Human and Environmental Risk Assessments (HERA) (2004): Alcohol ethoxysulphates (AES) environmental risk assessment. Disponible sur: <http://www.heraproject.com>
- Human and Environmental Risk Assessments (HERA) (2008): Esterquats environmental risk assessment. Disponible sur: <http://www.heraproject.com>
- Hurtado C, Montano-Chavez YN, Dominguez C, Bayona JM (2017): Degradation of Emerging Organic Contaminants in an Agricultural Soil: Decoupling Biotic and Abiotic Processes. *Water Air and Soil Pollution* 228
- Im SH, Ryoo JJ (2009): Characterization of sodium laureth sulfate by reversed-phase liquid chromatography with evaporative light scattering detection and H-1 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Chromatography A* 1216, 2339-2344
- INERIS (2016) : Données technico-économiques sur les substances chimiques en France, DRC-16-158744-11472A, (<http://www.ineris.fr/substances/fr/>)
- INERIS (2020): Institut national de l'environnement industriel et des risques, Verneuil-en-Halatte : Ineris - 172894 - 2169068 - v2.0, 144 p 30/11/2020. <https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/documentation/Pollution/LotA.pdf>
- ISO 7875-1 (1996): Qualité de l'eau — Dosage des agents de surface — Partie 1: Dosage des agents de surface anioniques par mesurage de l'indice au bleu de méthylène (indice SABM)
- Ivankovic T, Hrenovic J (2010): Surfactants in the environment. *Arhiv Za Higijenu Rada I Toksikologiju-Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 61, 95-110
- Jardak K, Drogui P, Daghrir R (2016): Surfactants in aquatic and terrestrial environment: occurrence, behavior, and treatment processes. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 3195-3216
- Johnson AC, Jin X, Nakada N, Sumpter JP (2020): Learning from the past and considering the future of chemicals in the environment. *Science* 367, 384-387
- Koh YKK, Chiu TY, Boobis AR, Cartmell E, Pollard SJT, Scrimshaw MD, Lester JN (2008): A sensitive and robust method for the determination of alkylphenol polyethoxylates and their carboxylic acids and their transformation in a trickling filter wastewater treatment plant. *Chemosphere* 73, 551-556
- Koh YKK, Chiu TY, Paterakis N, Boobis A, Scrimshaw MD, Lester JN, Cartmell E (2009): Fate and occurrence of alkylphenolic compounds in sewage sludges determined by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Environmental Technology* 30, 1415-1424

- Kruve A (2020): Strategies for Drawing Quantitative Conclusions from Nontargeted Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry Analysis. *Analytical Chemistry* 92, 4691-4699
- Kümmerer K, Clark JH, Zuin VG (2020): Rethinking chemistry for a circular economy. *Science* 367, 369-370
- Kurrey R, Mahilang M, Deb MK, Shrivastava K (2019): Analytical approach on surface active agents in the environment and challenges. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 21
- Laaniste A, Leito I, Kruve A (2019): ESI outcompetes other ion sources in LC/MS trace analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 411, 3533-3542
- Lalère B (2017) : Les blancs analytiques : définition et recommandations quant à leur utilisation. Rapport Aquaref 2017. 18 p.
- Landrigan PJ et al. (2018): The Lancet Commission on pollution and health. *Lancet* 391, 462-512
- Laperche (2016) : Environnement et Technique « L'amélioration du suivi des micropolluants nécessite une évolution des techniques », <https://www.environnement-et-technique.com/revue/promo/hs-micropolluant-2016/hs-micropolluant-2016.pdf>
- Lara-Martin PA, Gomez-Parra A, Kochling T, Sanz JL, Gonzalez-Mazo E (2007): Monitoring the primary biodegradation of linear alkylbenzene sulfonates and their coproducts in anoxic sediments using liquid chromatography-mass spectrometry. *Environmental Science & Technology* 41, 3580-3586
- Lara-Martin PA, Gomez-Parra A, Gonzalez-Mazo E (2008): Reactivity and fate of synthetic surfactants in aquatic environments. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 27, 684-695
- Lara-Martin PA, Gonzalez-Mazo E, Brownawell BJ (2011): Multi-residue method for the analysis of synthetic surfactants and their degradation metabolites in aquatic systems by liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1218, 4799-4807
- Lardy-Fontan S, Lalere B (2006) – Lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau – Rapport AQUAREF 2006. 45 p.
- Larpernt (1995) : Tensioactifs. *Techniques de l'Ingénieur* k342. 19 p.
- Leonards P, Eadsforth C, Schowanek D (2013): MonitoringBase Surfactants - A Database Specifically for Storage of Environmental Data on Surfactants in Europe. *Tenside Surfactants Detergents* 50, 325-331
- Lewis MA (1990): Chronic toxicities of surfactants and detergent builders to algae - A review and risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 20, 123-140
- Li J, Dodgen L, Ye Q, Gan J (2013): Degradation Kinetics and Metabolites of Carbamazepine in Soil. *Environmental Science & Technology* 47, 3678-3684
- Li WL, Zhang ZF, Sparhamb C, Li YF (2020): Validation of sampling techniques and SPE-UPLC/MS/MS for home and personal care chemicals in the Songhua Catchment, Northeast China. *Science of the Total Environment* 707
- Li X, Brownawell BJ (2010): Quaternary Ammonium Compounds in Urban Estuarine Sediment Environments - A Class of Contaminants in Need of Increased Attention? *Environmental Science & Technology* 44, 7561-7568

- Li X, Doherty AC, Brownawell B, Lara-Martin PA (2018): Distribution and diagenetic fate of synthetic surfactants and their metabolites in sewage-impacted estuarine sediments. *Environmental Pollution* 242, 209-218
- Liang HR, Foltz RL, Meng M, Bennett P (2003): Ionization enhancement in atmospheric pressure chemical ionization and suppression in electrospray ionization between target drugs and stable-isotope-labeled internal standards in quantitative liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 17, 2815-2821
- Loontjens J.A. (2013): Quaternary Ammonium Compounds. In: Moriarty T., Zaat S., Busscher H. (eds) *Biomaterials Associated Infection*. Springer, New York, NY
- Loraine GA, Pettigrove ME (2006): Seasonal variations in concentrations of pharmaceuticals and personal care products in drinking water and reclaimed wastewater in Southern California. *Environmental Science & Technology* 40, 687-695
- Loyo-Rosales JE, Schmitz-Afonso I, Rice CP, Torrents A (2003): Analysis of octyl- and nonylphenol and their ethoxylates in water and sediments by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 75, 4811-4817
- Loyo-Rosales JE, Rice CP, Torrents A (2007): Fate of octyl- and nonylphenol ethoxylates and some carboxylated derivatives in three American wastewater treatment plants. *Environmental Science & Technology* 41, 6815-6821
- Lu Z, Gan J (2014): Analysis, toxicity, occurrence and biodegradation of nonylphenol isomers: A review. *Environment International* 73, 334-345
- Lundberg D, Stjern Dahl M, Holmberg K (2008): Surfactants Containing Hydrolyzable Bonds. *Interfacial Processes and Molecular Aggregation of Surfactants* 218, 57-82
- Madsen T, Boyd HB, Nylén D, Rathmann-Pedersen A, Petersen GI, Simonsen F (2001): Environmental and health assessment of substances in household detergents and cosmetic detergent products. Environmental Project No. 615, Final Report, Danish Environmental Protection Agency.
- Malassagne-Bulgarelli N (2010): Emulsion microstructure and dynamics. PhD thesis. Victoria University of Wellington
- Majors R (2012): "Just Enough" sample preparation: a proven trend in sample analysis, *LCGC Europe* 25, 670-674
- Mao X, Jiang R, Xiao W, Yu J (2015): Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: A review. *Journal of Hazardous Materials* 285, 419-435
- Margot J, Rossi L, Barry DA, Holliger C (2015): A review of the fate of micropollutants in wastewater treatment plants. *Wiley Interdisciplinary Reviews-Water* 2, 457-487
- Martinez-Carballo E, Gonzalez-Barreiro C, Sitka A, Kreuzinger N, Scharf S, Gans O (2007a): Determination of selected quaternary ammonium compounds by liquid chromatography with mass spectrometry. Part II. Application to sediment and sludge samples in Austria. *Environmental Pollution* 146, 543-547
- Martinez-Carballo E, Sitka A, Gonzalez-Barreiro C, Kreuzinger N, Fuerhacker M, Scharf S, Gans O (2007b): Determination of selected quaternary ammonium compounds by liquid chromatography with mass spectrometry. Part I. Application to surface, waste and indirect discharge water samples in Austria. *Environmental Pollution* 145, 489-496

- Matthies M, Solomon K, Vighi M, Gilman A, Tarazona JV (2016): The origin and evolution of assessment criteria for persistent, bioaccumulative and toxic (PBT) chemicals and persistent organic pollutants (POPs). *Environmental Science-Processes & Impacts* 18, 1114-1128
- McDonough K, Casteel K, Itrich N, Menzies J, Belanger S, Wehmeyer K, Federle T (2016): Evaluation of anionic surfactant concentrations in US effluents and probabilistic determination of their combined ecological risk in mixing zones. *Science of the Total Environment* 572, 434-441
- McMaster, M. C. (2005): *LC-MS: A Practical User's Guide*, John Wiley & Sons, 165 pp.
- Michael C, Maria Bayona J, Lambropoulou D, Aguera A, Fatta-Kassinos D (2017): Two important limitations relating to the spiking of environmental samples with contaminants of emerging concern: How close to the real analyte concentrations are the reported recovered values? *Environmental Science and Pollution Research* 24, 15202-15205
- Mozaner Bordin DC, Rabelo Alves MN, de Campos EG, De Martinis BS (2016): Disposable pipette tips extraction: Fundamentals, applications and state of the art. *Journal of Separation Science* 39, 1168-1172
- Mulder I, Siemens J, Sentek V, Amelung W, Smalla K, Jechalke S (2018): Quaternary ammonium compounds in soil: implications for antibiotic resistance development. *Reviews in Environmental Science and Bio-Technology* 17, 159-185
- Mungray AK, Kumar P (2009): Fate of linear alkylbenzene sulfonates in the environment: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation* 63, 981-987
- Olkowska E, Ruman M, Polkowska Z (2014): Occurrence of Surface Active Agents in the Environment. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*
- Ostman M, Lindberg RH, Fick J, Bjorn E, Tysklind M (2017): Screening of biocides, metals and antibiotics in Swedish sewage sludge and wastewater. *Water Research* 115, 318-328
- Otzen DE (2017): Biosurfactants and surfactants interacting with membranes and proteins: Same but different? *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 1859, 639-649
- Paijens C, Frere B, Caupos E, Moilleron R, Bressy A (2020): Determination of 18 Biocides in Both the Dissolved and Particulate Fractions of Urban and Surface Waters by HPLC-MS/MS. *Water Air and Soil Pollution* 231
- Paijens C, Bressy A, Frere B, Tedoldi D, Mailler R, Rocher V, Neveu P, Moilleron R (2021): Urban pathways of biocides towards surface waters during dry and wet weathers: Assessment at the Paris conurbation scale. *Journal of Hazardous Materials* 402
- Pan G, Jia C, Zhao D, You C, Chen H, Jiang G (2009): Effect of cationic and anionic surfactants on the sorption and desorption of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on natural sediments. *Environmental Pollution* 157, 325-330
- Pereira BMP, Tagkopoulos I (2019): Benzalkonium Chlorides: Uses, Regulatory Status, and Microbial Resistance. *Applied and Environmental Microbiology* 85
- Petrovic M, Barcelo D (2000): Determination of anionic and nonionic surfactants, their degradation products, and endocrine-disrupting compounds in sewage sludge by liquid chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 72, 4560-4567

- Petrovic M, Lacorte S, Viana P, Barcelo D (2002): Pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of alkylphenolic compounds in river sediment. *Journal of Chromatography A* 959, 15-23
- Petrovic M (2014): Methodological challenges of multi-residue analysis of pharmaceuticals in environmental samples. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 1, E25-E33
- Plan micropolluants (2016-2021) pour préserver la qualité des eaux et la biodiversité <https://www.ecologique-solidaire.gouv.fr/>
- Plomley JB, Crozier PW, Taguchi VY (1999): Characterization of nonyl phenol ethoxylates in sewage treatment plants by combined precursor ion scanning and multiple reaction monitoring. *Journal of Chromatography A* 854, 245-257
- Poole A (Ed.) (2013) Understanding the Relationship between Extraction Technique and Bioavailability, ECETOC Technical Report No. 117. ISSN-2079-1526-117, <http://www.ecetoc.org/publications>
- Règlement (UE) 2020/2160 de la Commission du 18 décembre 2020 modifiant l'annexe XIV du règlement (UE) no 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne le groupe de substances 4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl)phénol, éthoxylé (couvrant les substances bien définies et les substances de composition inconnue ou variable, les produits de réaction complexes ou les matériaux biologiques, les polymères et homologues) <http://data.europa.eu/eli/reg/2020/2160/oj>
- Rondeau D (2017) : Spectrométrie de masse organique - Principe, méthodes d'introduction et d'ionisation. *Techniques de l'Ingénieur* p2645. 27 p.
- Roser M (2018) : Influence du débit et de la géométrie de la source sur l'efficacité de la formation des ions au sein d'une source électrospray, Rapport de stage de Master 2 Analyse et Contrôle de l'Université Claude Bernard Lyon 1
- Ruan T, Song S, Wang T, Liu R, Lin Y, Jiang G (2014): Identification and Composition of Emerging Quaternary Ammonium Compounds in Municipal Sewage Sludge in China. *Environmental Science & Technology* 48, 4289-4297
- Rundlett KL, Armstrong DW (1996): Mechanism of signal suppression by an ionic surfactants in capillary electrophoresis electrospray ionization mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 68, 3493-3497
- Sakai N, Shirasaka J, Matsui Y, Ramli MR, Yoshida K, Mohd MA, Yoneda M (2017): Occurrence, fate and environmental risk of linear alkylbenzene sulfonate in the Langat and Selangor River basins, Malaysia. *Chemosphere* 172, 234-241
- Salgueiro-Gonzalez N, Concha-Grana E, Turnes-Carou I, Muniategui-Lorenzo S, Lopez-Mahia P, Prada-Rodriguez D (2012): Blank and sample handling troubleshooting in ultratrace analysis of alkylphenols and bisphenol A by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Talanta* 101, 413-419
- Sanderson H, Dyer SD, Price BB, Nielsen AM, van Compernelle R, Selby M, Stanton K, Evans A, Ciarlo M, Sedlak R (2006a): Occurrence and weight-of-evidence risk assessment of alkyl sulfates, alkyl ethoxysulfates, and linear alkylbenzene sulfonates (LAS) in river water and sediments. *Science of the Total Environment* 368, 695-712
- Sanderson H, Price BB, Dyer SD, DeCarvalho AJ, Robaugh D, Waite SW, Morrall SW, Nielsen AM, Cano ML, Evans KA (2006b): Occurrence and hazard screening of alkyl sulfates

- and alkyl ethoxysulfates in river sediments. *Science of the Total Environment* 367, 312-323
- SANTE (2020) : Analytical Quality Control And Method Validation Procedures For Pesticide Residues Analysis In Food And Feed, Document SANTE/12682/2019. 49 p.
- Santos IC, Guo HY, Mesquita RBR, Rangel A, Armstrong DW, Schug KA (2015): Paired-ion electrospray ionization - triple quadrupole tandem mass spectrometry for quantification of anionic surfactants in waters. *Talanta* 143, 320-327
- Sargent M (Ed.) (2013) : Guide to achieving reliable quantitative LC-MS measurements, RSC Analytical Methods Committee. ISBN 978-0-948926-27-3
- Schaeffer A, Kaestner M, Trapp S (2018): A unified approach for including non-extractable residues (NER) of chemicals and pesticides in the assessment of persistence. *Environmental Sciences Europe* 30
- Schmidt S, Piechotta C, Godejohann M, Win T, Nehls I, Mugge C (2010): Characterisation of commercially available linear alkylbenzenesulfonates by LC-SPE-NMR/MS (liquid chromatography-solid phase extraction-nuclear magnetic resonance spectroscopy-mass spectroscopy). *Talanta* 82, 143-150
- Seiler TB, Schulze T, Hollert H (2008): The risk of altering soil and sediment samples upon extract preparation for analytical and bio-analytical investigations - a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 390, 1975-1985
- Shen Q, Jin R, Xue J, Lu Y, Dai Z (2016): Analysis of trace levels of sulfonamides in fish tissue using micro-scale pipette tip-matrix solid-phase dispersion and fast liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chemistry* 194, 508-515
- Silva LG, Gavazza S, Florencio L, Kato MT (2017): Quantification of linear alkylbenzene sulfonate in sewage treatment plants and rivers by high performance liquid chromatography and solid phase extraction. *Quimica Nova* 40, 334-341
- Soleilhac A, Dagany X, Dugourd P, Girod M, Antoine R (2015): Correlating Droplet Size with Temperature Changes in Electrospray Source by Optical Methods. *Analytical Chemistry* 87, 8210-8217
- Song F (2011): "Cross-Talk" in Scheduled Multiple Reaction Monitoring Caused by In-Source Fragmentation in Herbicide Screening with Liquid Chromatography Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 4361-4364
- Staub PF, Dulio V, Gras O, Perceval O, Ait-Aïssa S (2019): A Prospective Surveillance Network for improved identification of contaminants of emerging concern (CECs) and testing of innovative monitoring tools in France. *NORMAN Bulletin*, Issue 6, p21-24. <http://www.norman-network.net/?q=NORMAN%20Bulletin>
- Steckel A, Schlosser G (2019): An Organic Chemist's Guide to Electrospray Mass Spectrometric Structure Elucidation. *Molecules* 24
- Stien D (2021): Détection de filtres solaires et annotation de leurs dérivés dans des matrices complexes (sédiments, corail), Journée Club AFSEP Sud Ouest « Les Matrices Complexes ». 18 Mars 2021
- Subedi B, Aguilar L, Robinson EM, Hageman KJ, Bjorklund E, Sheesley RJ, Usenko S (2015): Selective pressurized liquid extraction as a sample-preparation technique for persistent organic pollutants and contaminants of emerging concern. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 68, 119-132

- Szczepanska N, Rutkowska M, Owczarek K, Plotka-Wasyłka J, Namiesnik J (2018): Main complications connected with detection, identification and determination of trace organic constituents in complex matrix samples. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 105, 173-184
- Taylor PJ (2005): Matrix effects: The Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Clinical Biochemistry* 38, 328-334
- Tousova Z, Oswald P, Slobodnik J, Blaha L, Muz M, Hu M, Brack W, Krauss M, Di Paolo C, Tarcai Z, Seiler TB, Hollert H, Koprivica S et al. (2017): European demonstration program on the effect-based and chemical identification and monitoring of organic pollutants in European surface waters. *Science of the Total Environment* 601, 1849-1868
- Traverso-Soto JM, Lara-Martin PA, Gonzalez-Mazo E, Leon VM (2015): Distribution of anionic and nonionic surfactants in a sewage-impacted Mediterranean coastal lagoon: Inputs and seasonal variations. *Science of the Total Environment* 503, 87-96
- Vandeputte J (2012): Les agro-tensioactifs. *OCL* vol. 19, n°2 p.133-137, DOI: 10.1051/ocl.2012.0431, <http://www.ocl-journal.org>
- Vincze K, Gehring M, Braunbeck T (2014): (Eco)toxicological effects of 2,4,7,9-tetramethyl-5-decyne-4,7-diol (TMDD) in zebrafish (*Danio rerio*) and permanent fish cell cultures. *Environmental Science and Pollution Research* 21, 8233-8241
- Wang Z, Walker GW, Muir DCG, Nagatani-Yoshida K (2020): Toward a Global Understanding of Chemical Pollution: A First Comprehensive Analysis of National and Regional Chemical Inventories. *Environmental Science & Technology* 54, 2575-2584
- Wells MJM (2000): Handling large volumes samples : applications of SPE to environmental matrices. In *Solid-Phase Extraction: Principles, Techniques and Application*, 1st ed.; Simpson NKJ, Ed; CRC Press
- Wei T. and Simko V. (2017). R package "corrplot": Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.84). Available from <https://github.com/taiyun/corrplot>
- Wiest L (2017): Evaluation de la contamination des rejets urbains et des établissements de soin par les détergents et biocides, Livrable L2 de la tâche 1.2 du projet RILACT - 16p. <http://www.graie.org/Sipibel/publications.html>
- Wittmer, I., M. Junghans, H. Singer et C. Stamm (2014), « Micropolluants – Stratégie d'évaluation pour les micropolluants organiques de sources non ponctuelles ». Etude réalisée sur mandat de l'OFEV. Eawag, Dübendorf

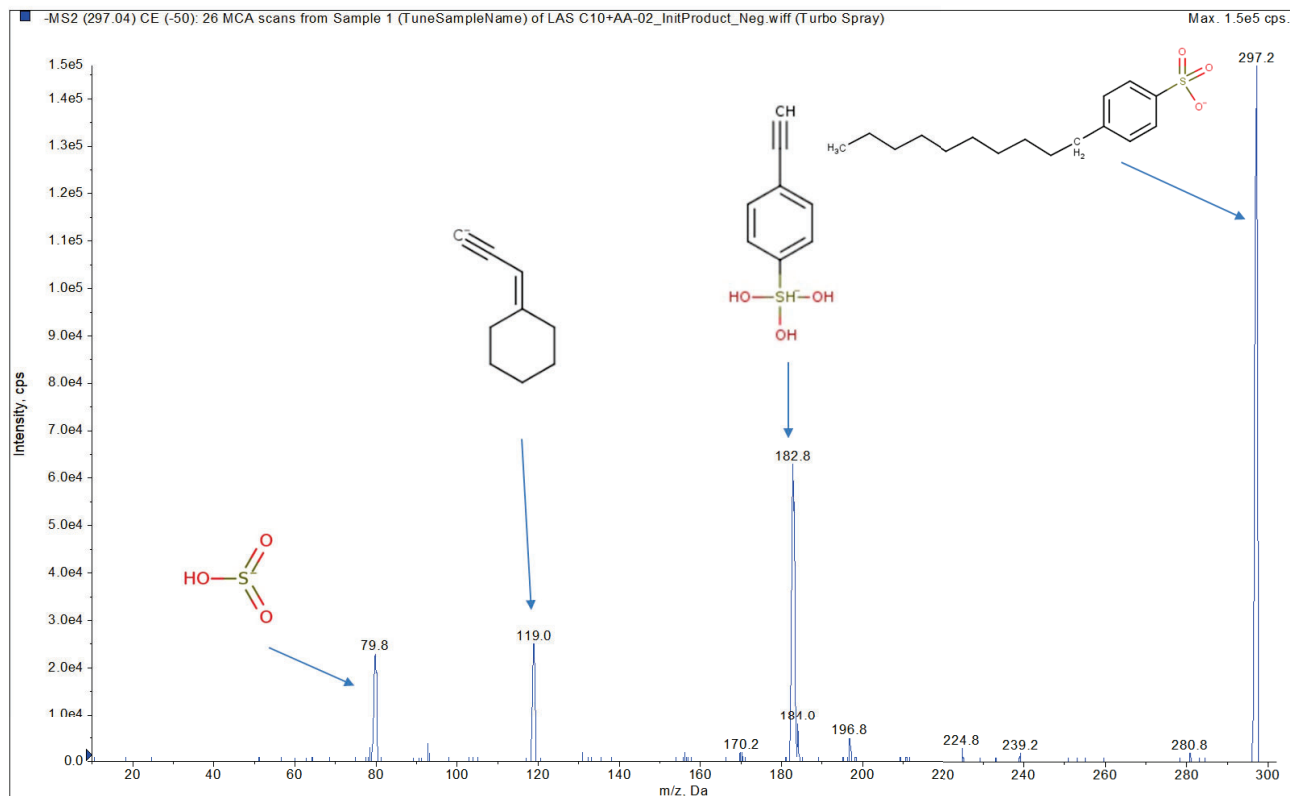
Annexe 1 : Noms, codes SANDRE, CAS RN et EC (liste non exhaustive)

	Nom EMNAT	Code SANDRE	Nom ECHA	EC	EC salt (Na or Cl)	CAS RN	CAS RN salt (Na or Cl)
LAS C10	Acide benzène décyl sulfonique	8316			215-347-5		1322-98-1
LAS C11	Acide benzène undécyl sulfonique	8317	Undecylbenzenesulphonate		248-583-2	no	27636-75-5
LAS C12	Acide benzène dodécyl sulfonique	8318	Dodecylbenzenesulphonate	215-544-6	218-654-2	1330-69-4	2211-98-5
LAS C13	Acide benzène tridécyl sulfonique	8319			247-536-3		26248-24-8
LAS C14	Acide benzène tétradécyl sulfonique	8320			248-985-8		28348-61-0
Somme LAS C10-C14	LAS C10C14	8321			285-600-2	42615-29-2	85117-50-6
Somme LAS C10-C13				287-494-3	270-115-0	85536-14-7	68411-30-3
C12EO1S	1-laureth sulfate	8323			239-925-1		15826-16-1
C12EO2S	2-laureth sulfate	8324			221-416-0		3088-31-1
SDS	Lauryl sulfate	5282			205-788-1	151-41-7	151-21-3
EHS	Ethylhexyl sulfate	8327			204-812-8		126-92-1
BAC-C12	Dodécyl diméthyl benzyl ammonium	8297			205-351-5	10328-35-5	139-07-1
BAC-C14	Tétradécyl diméthyl benzyl ammonium	8298			205-352-0	16287-71-1	139-08-2
BAC-C16	Hexadécyl diméthyl benzyl ammonium	8299			204-526-3	10328-34-4	122-18-9

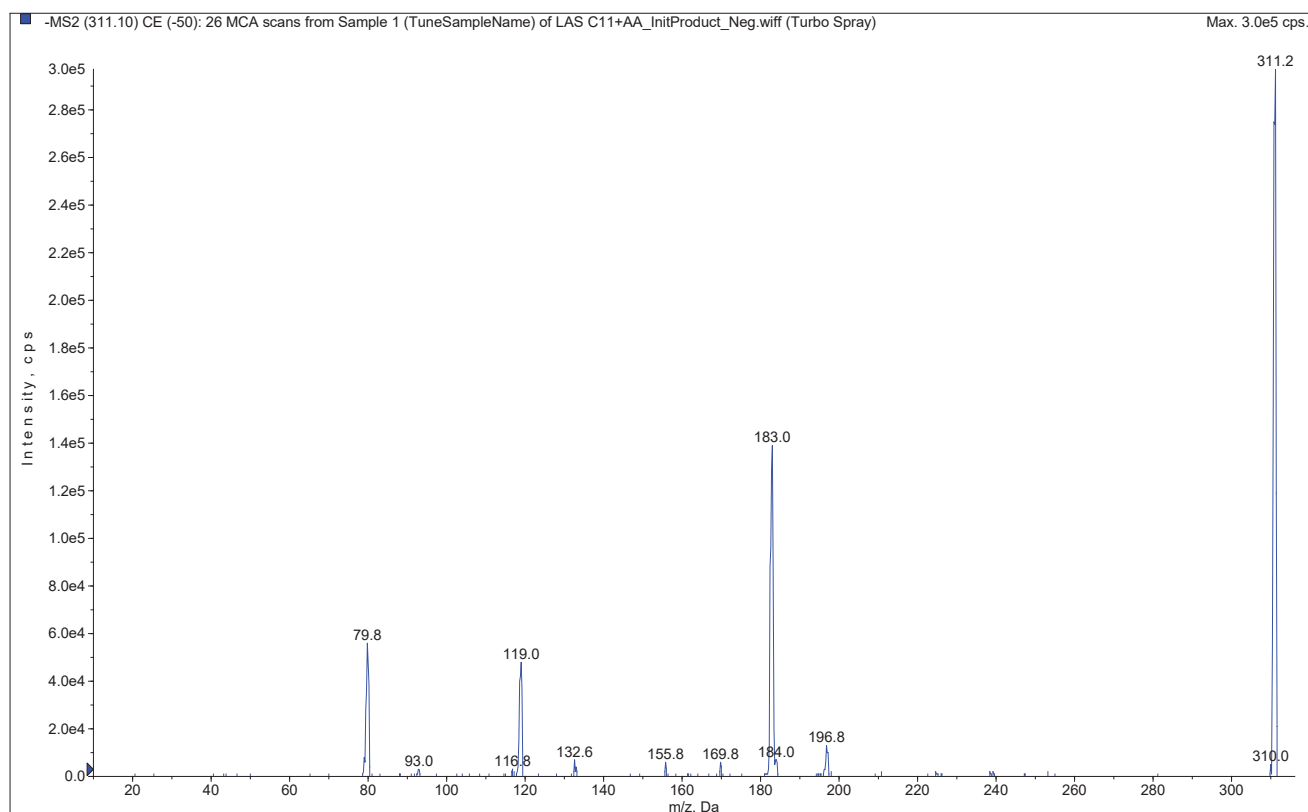
	Nom EMNAT	Code SANDRE	Nom ECHA	EC	EC salt (Na or Cl)	CAS RN	CAS RN salt (Na or Cl)
BAC-C18	Octadécyl diméthyl benzyl ammonium	8300			204-527-9	37612-69-4	122-19-0
Somme BAC-C12 à C14						85409-22-9	
Somme BAC-C12 à C16						68424-85-1	
Somme BAC-C12 à C18						68391-01-5	
DDAC-C10	Didecyl diméthyl ammonium	6636			230-525-2	20256-56-8	7173-51-5
LaurPyr	Laurylpyridinium	8330			203-232-2	15416-74-7	104-74-5
SADP-DMA	N-[3-(diméthylamino)propyl]octadécanamide	8326		231-609-1		7651-02-7	
TEAQ-C16	Stepanquat GA 90 (C16)	8328	Esterification products of fatty acids, C16-18 (even numbered) and C18 (unsaturated) with triethanolamine, dimethyl sulphate-quaternized	931-203-0		157905-74-3	
TEAQ-C18	Stepanquat GA 90 (C18)	8329					
OPEO	Triton X-100	8322		618-344-0		9002-93-1	
CMEA	N-(2-hydroxyéthyl)dodécanamide	8325				68140-00-1	
TMDD	Surfynol 104	6649		204-809-1		126-86-3	
Cetylbétaïne	Héxadécylbétaïne	8331		211-748-4		693-33-4	

Annexe 2 : Spectres de fragmentation des tensioactifs et formules chimiques possibles

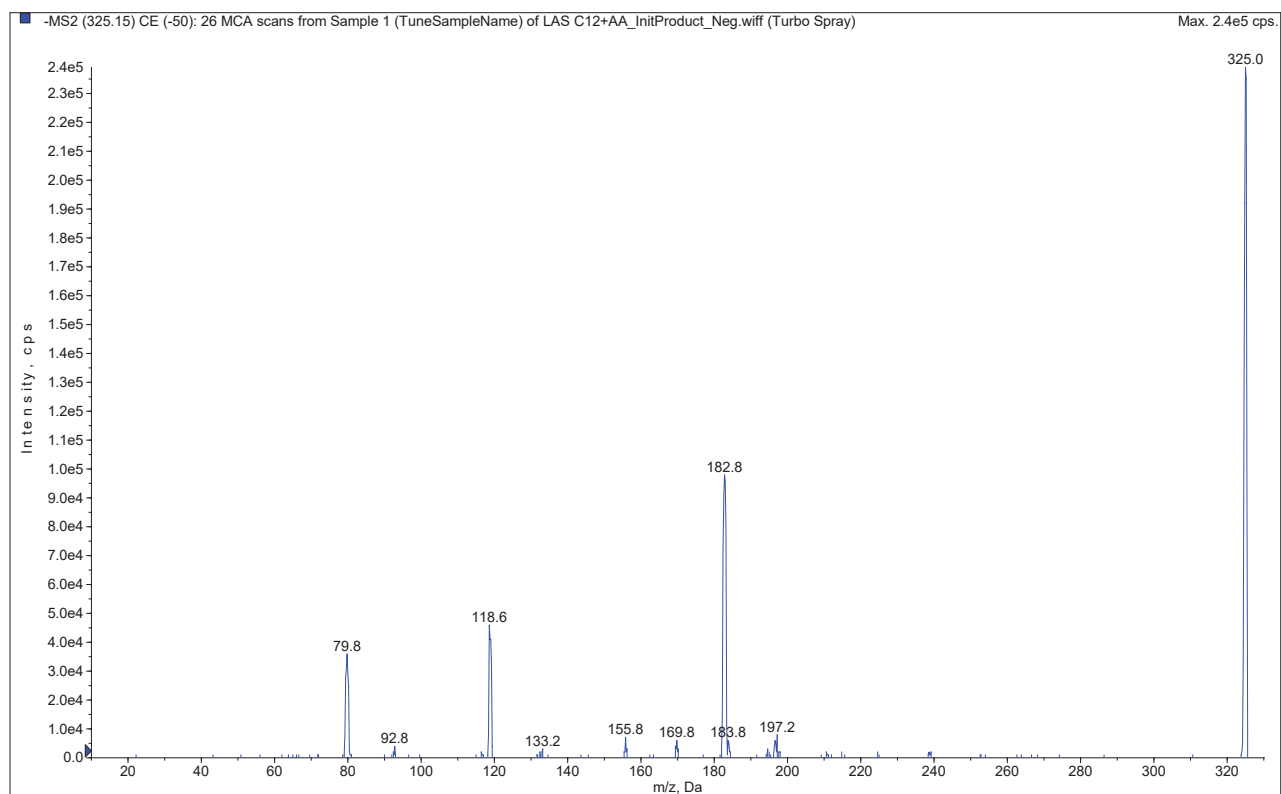
LAS C10



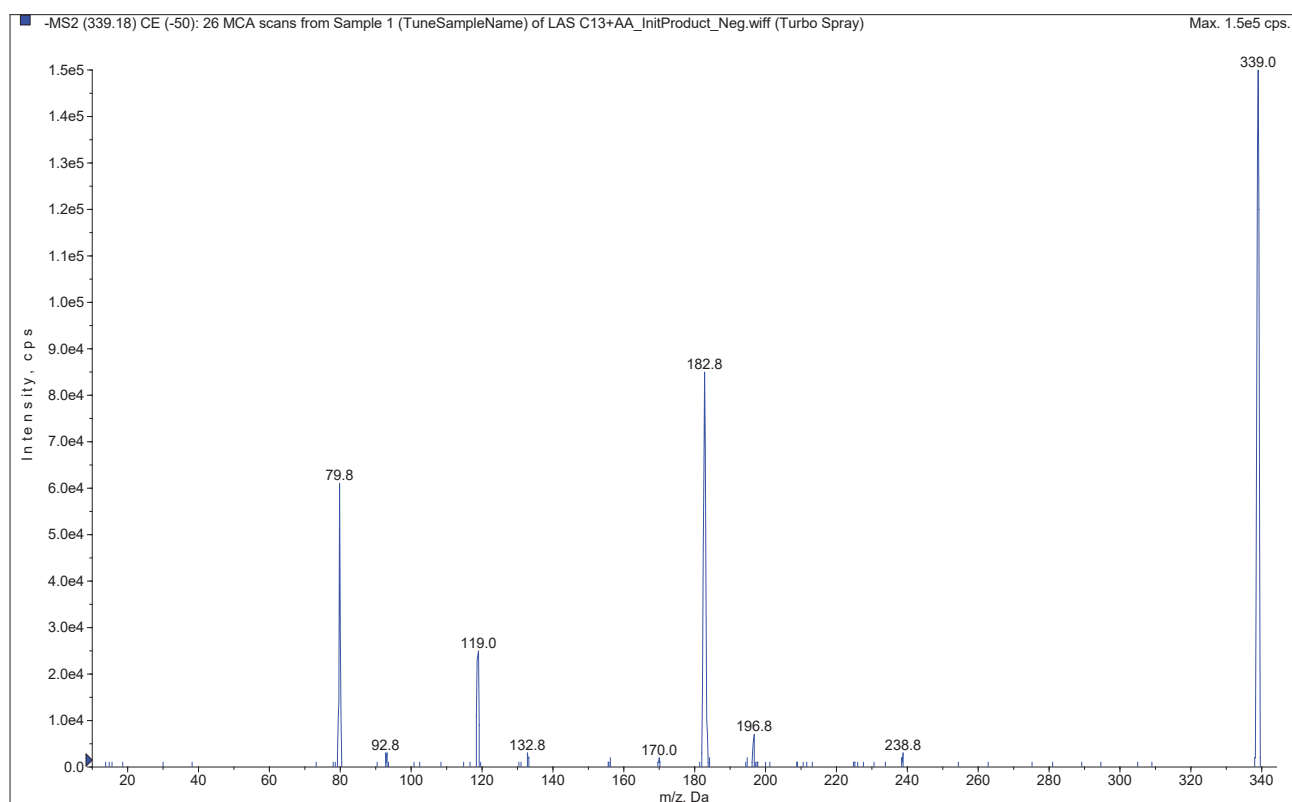
LAS C11



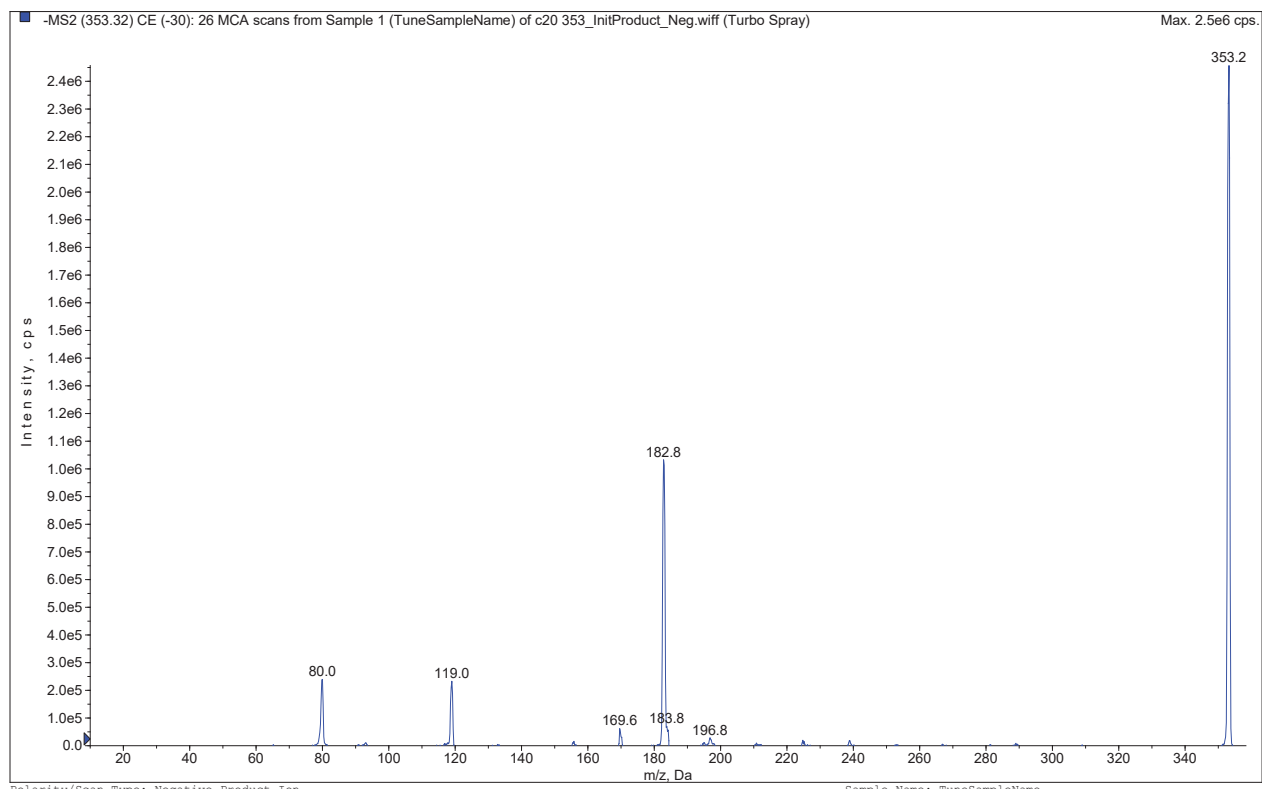
LAS C12



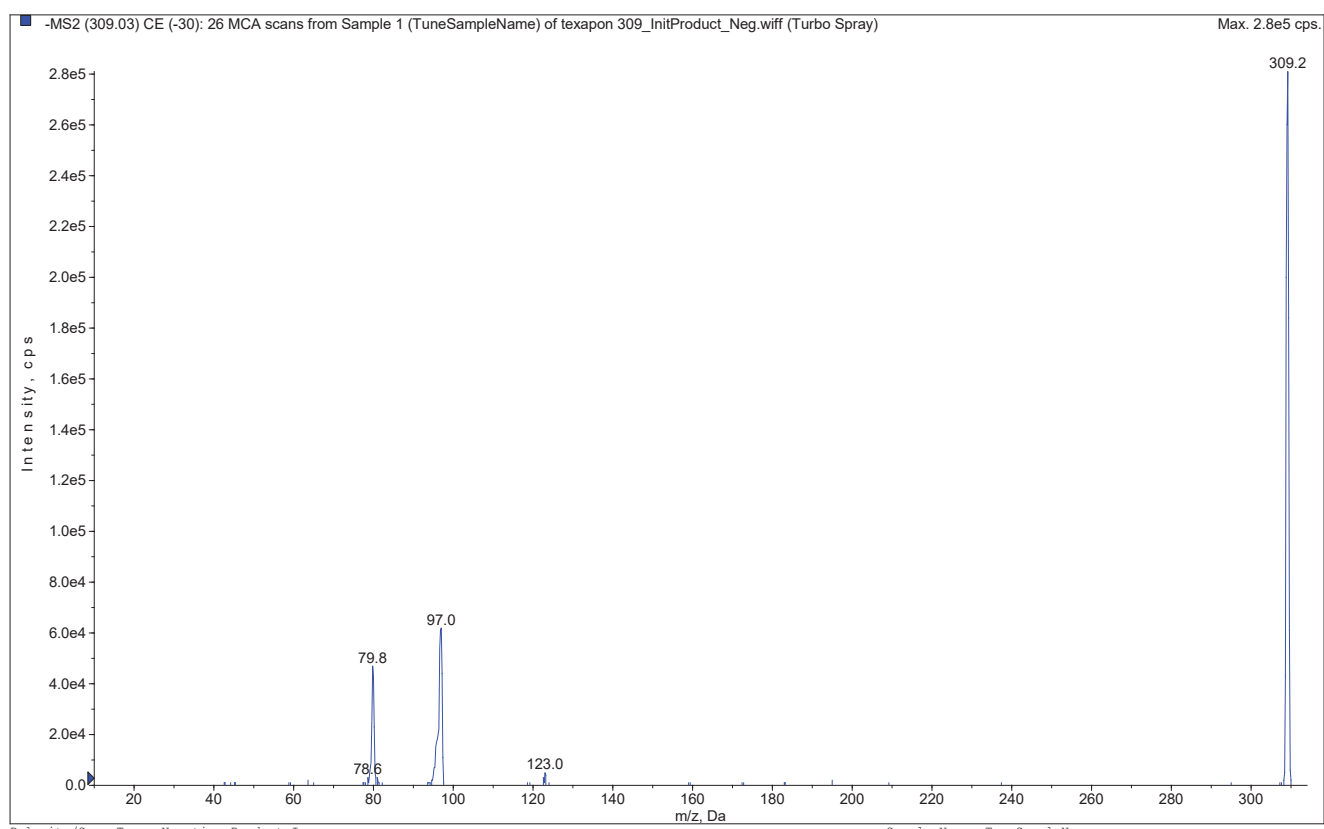
LAS C13



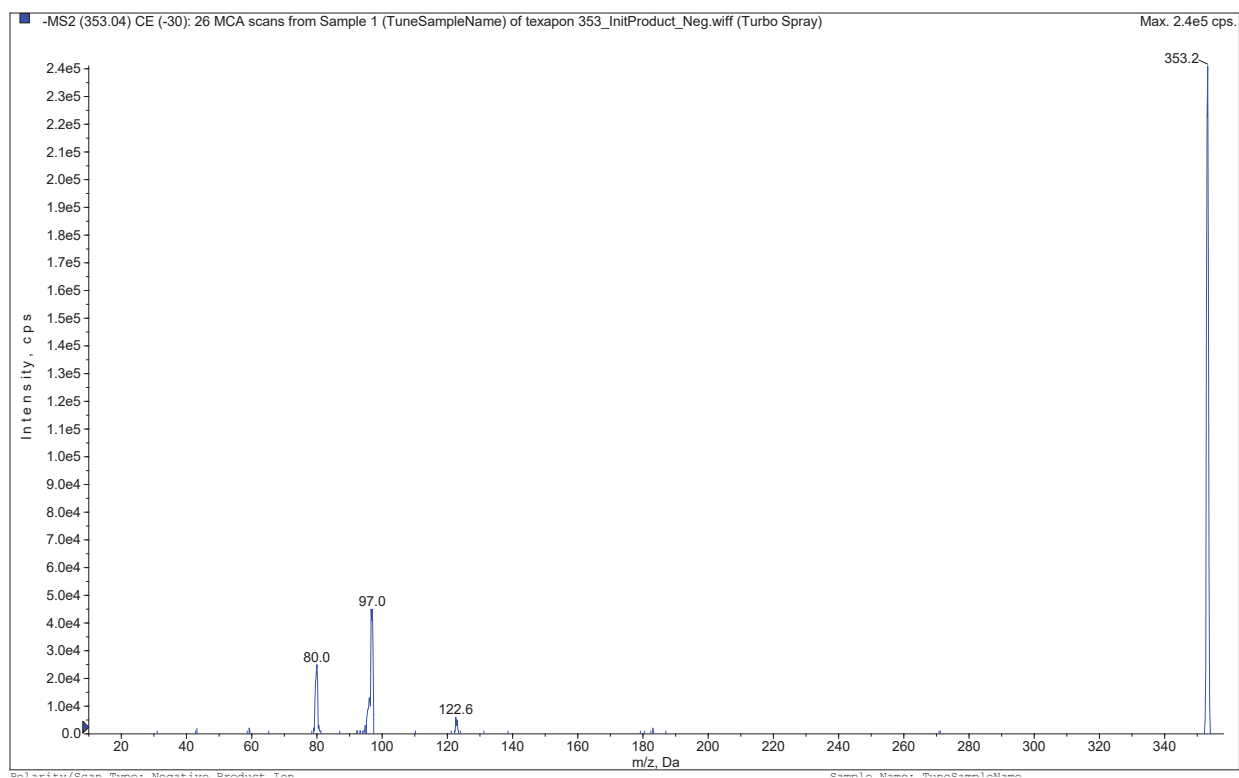
LAS C14



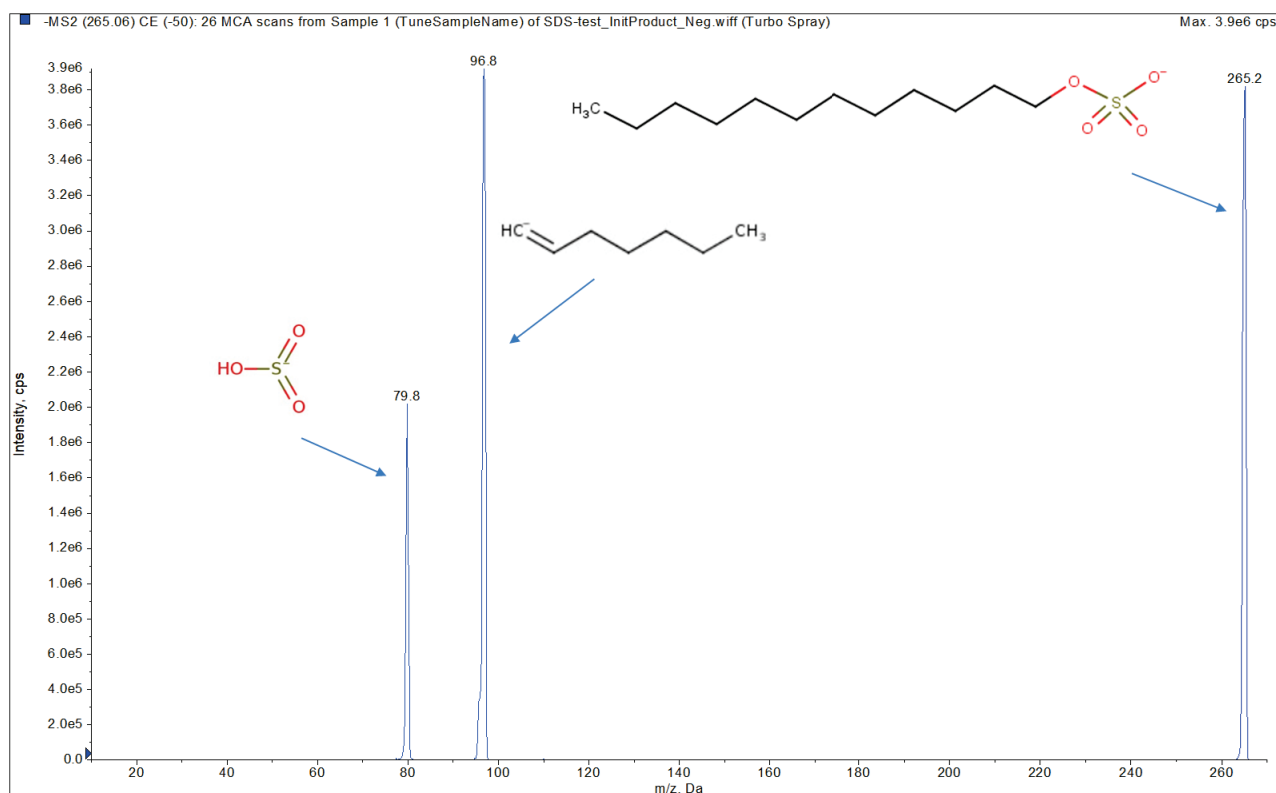
C₁₂EO₁S



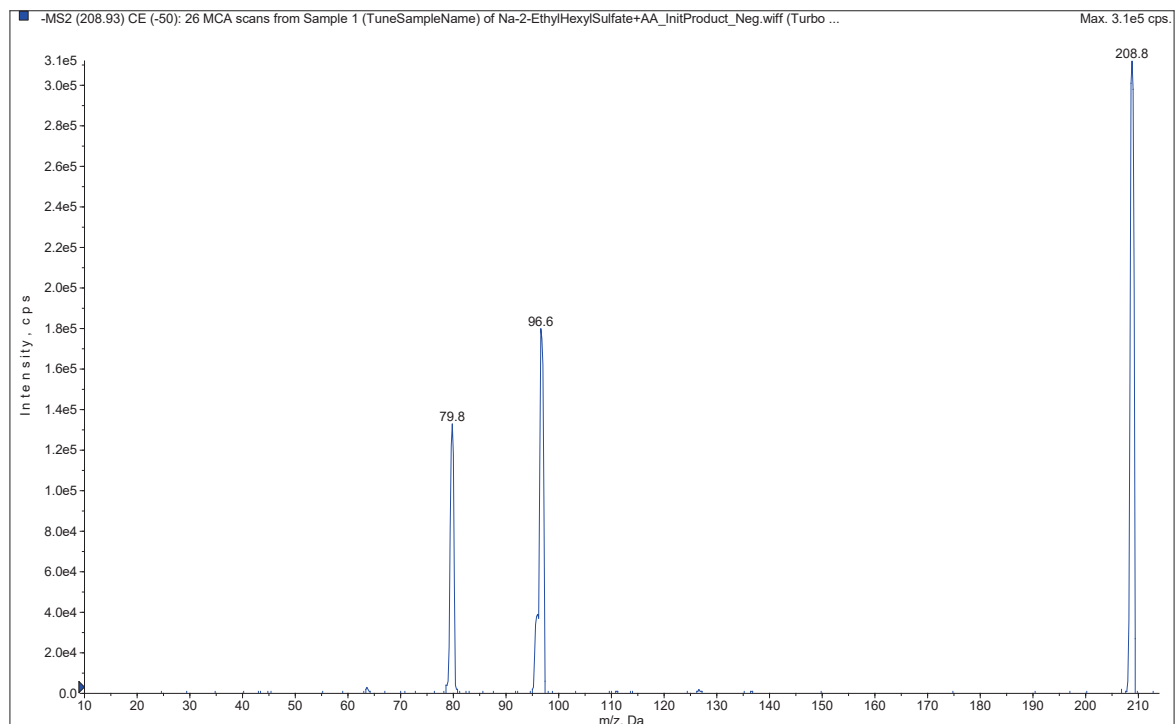
C₁₂EO₂S



SDS



EHS



■ +MS2 (532.42) CE (50): 26 MCA scans from Sample 1 (TuneSampleName) of Triton x100-01+AF+AA_InitProduct_Pos. (T Turbo Spra... Max. 8.6e4 cps

Intensity, cps

m/z Da

Chemical structures shown above the spectrum:

- Top structure: A benzene ring with a positive charge on one carbon atom, labeled with C^+ and C .
- Middle structure: A polyether chain with a terminal hydroxyl group, labeled with $[M+NH_4]^+$.
- Bottom structure: A polyether chain with a terminal vinyl group, labeled with -44 .

Mass spectrum data points (m/z, Intensity):

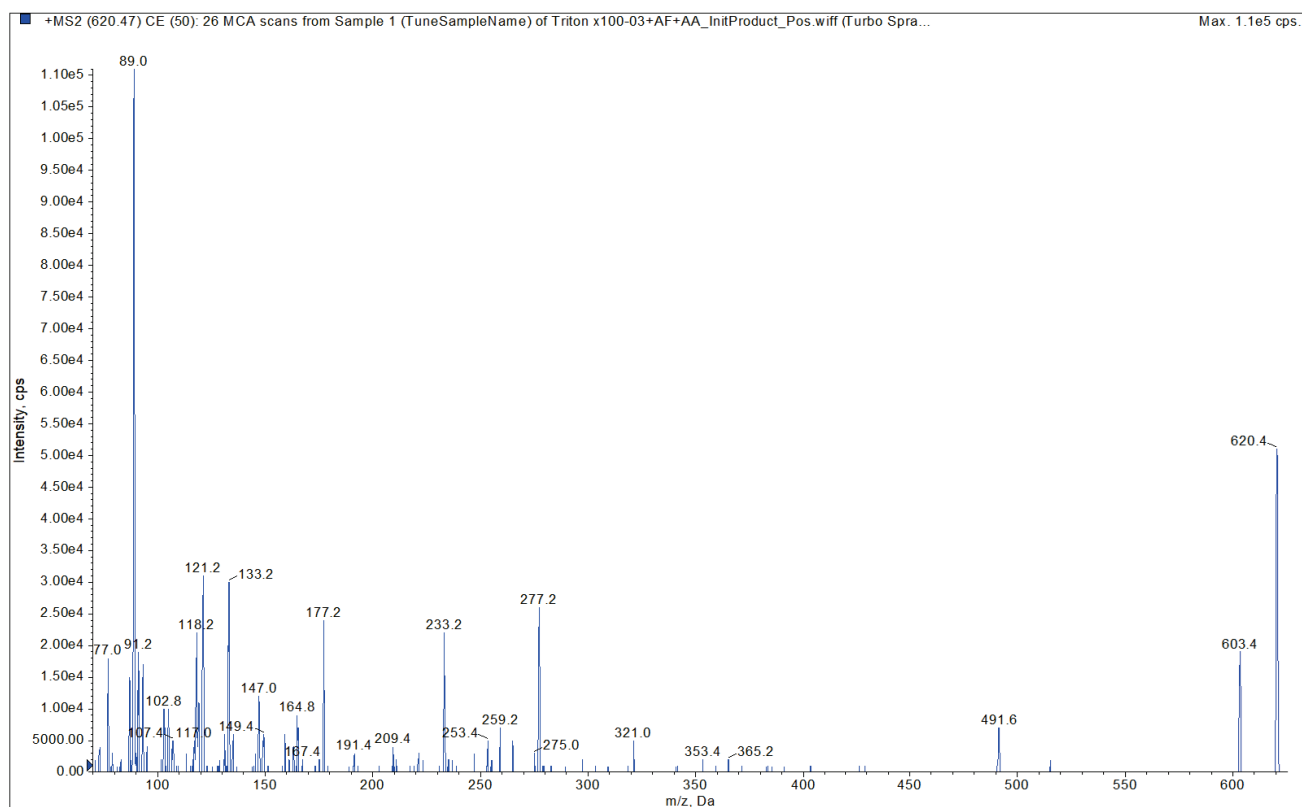
m/z	Intensity (cps)
43.0	~500
45.0	~8.5e4
57.0	~8.5e4
68.6	~500
73.2	~500
77.0	~2.0e4
89.0	~6.5e4
91.0	~2.0e4
92.8	~1.0e4
95.2	~500
107.0	~1.0e4
118.2	~1.0e4
121.0	~4.5e4
131.4	~500
133.2	~4.0e4
147.2	~1.0e4
163.4	~500
165.4	~1.5e4
177.4	~1.0e4
209.0	~500
224.2	~500
233.4	~1.5e4
253.2	~500
277.4	~1.5e4
315.0	~500
321.2	~1.0e4
403.4	~1.5e4
515.6	~3.5e4
532.6	~8.5e4

■ +MS2 (576.45) CE (50): 26 MCA scans from Sample 1 (TuneSampleName) of Triton x100-02+AF+AA_InitProduct_Pos.wiff (Turbo Spra... Max. 1.2e5 cps.

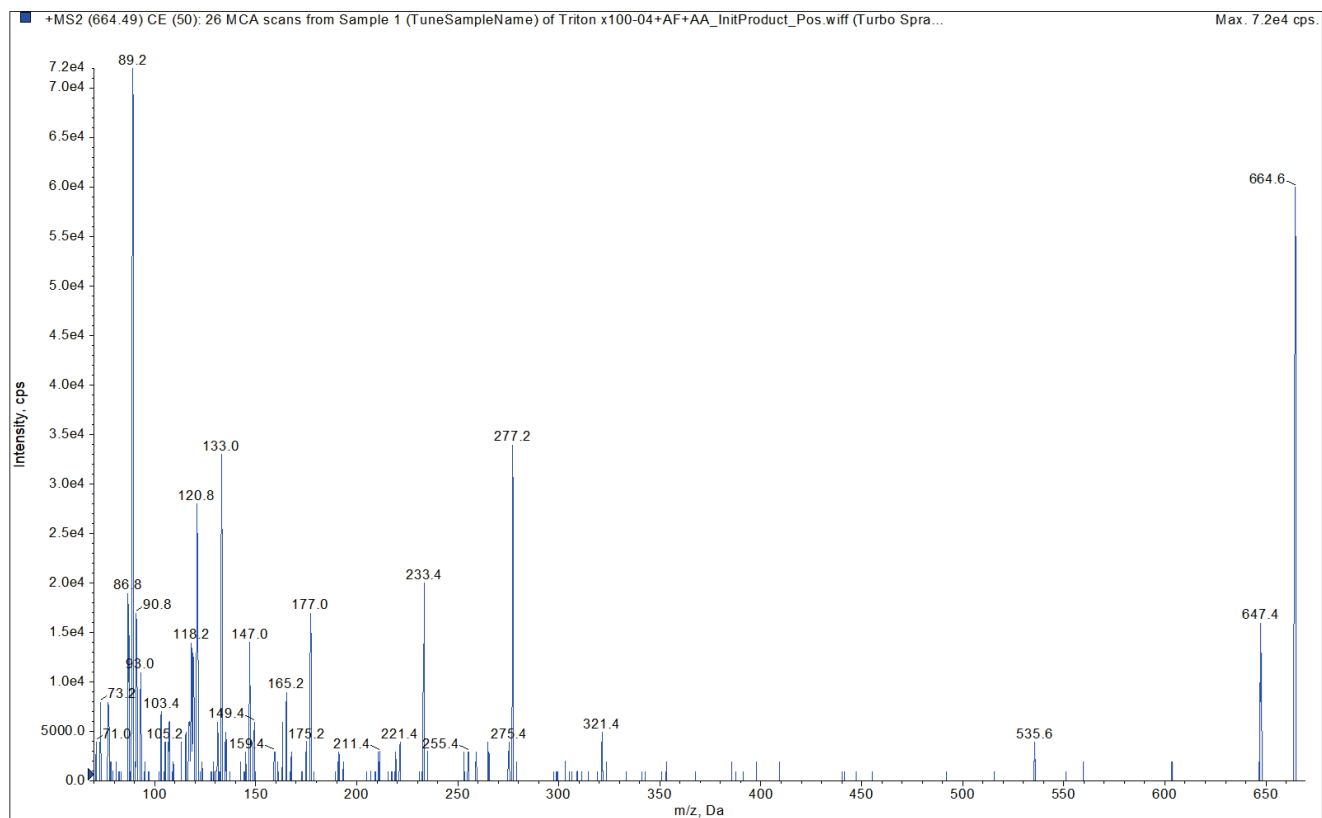
Mass spectrum plot showing intensity (cps) versus m/z (Da). The y-axis ranges from 0.00 to 1.15e5 cps. The x-axis ranges from 50 to 550 Da. The base peak is at m/z 57.0. Other significant peaks are labeled with their m/z values.

m/z (Da)	Intensity (cps)
41.4	~5000
45.2	~1.1e5
57.0	~1.15e5
73.0	~10000
77.0	~15000
89.2	~8.5e4
91.0	~2.5e4
94.8	~5000
105.0	~10000
118.2	~15000
121.2	~4.0e4
133.4	~3.0e4
135.0	~15000
144.8	~5000
147.0	~15000
165.4	~2.0e4
167.2	~10000
177.0	~2.0e4
191.0	~10000
209.2	~1.5e4
221.2	~5000
233.2	~2.0e4
265.0	~5000
277.4	~3.0e4
303.2	~5000
321.4	~10000
403.4	~5000
447.2	~1.5e4
559.4	~2.5e4
576.6	~9.0e4

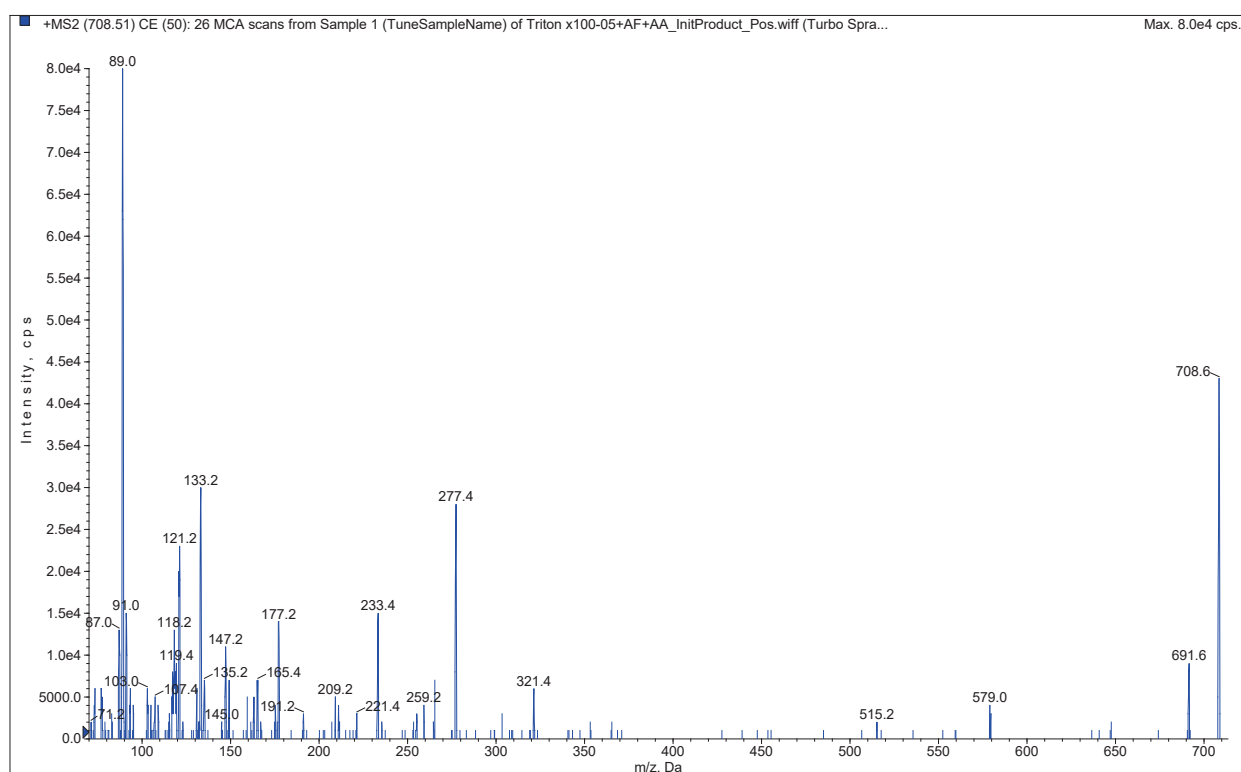
OP9EO



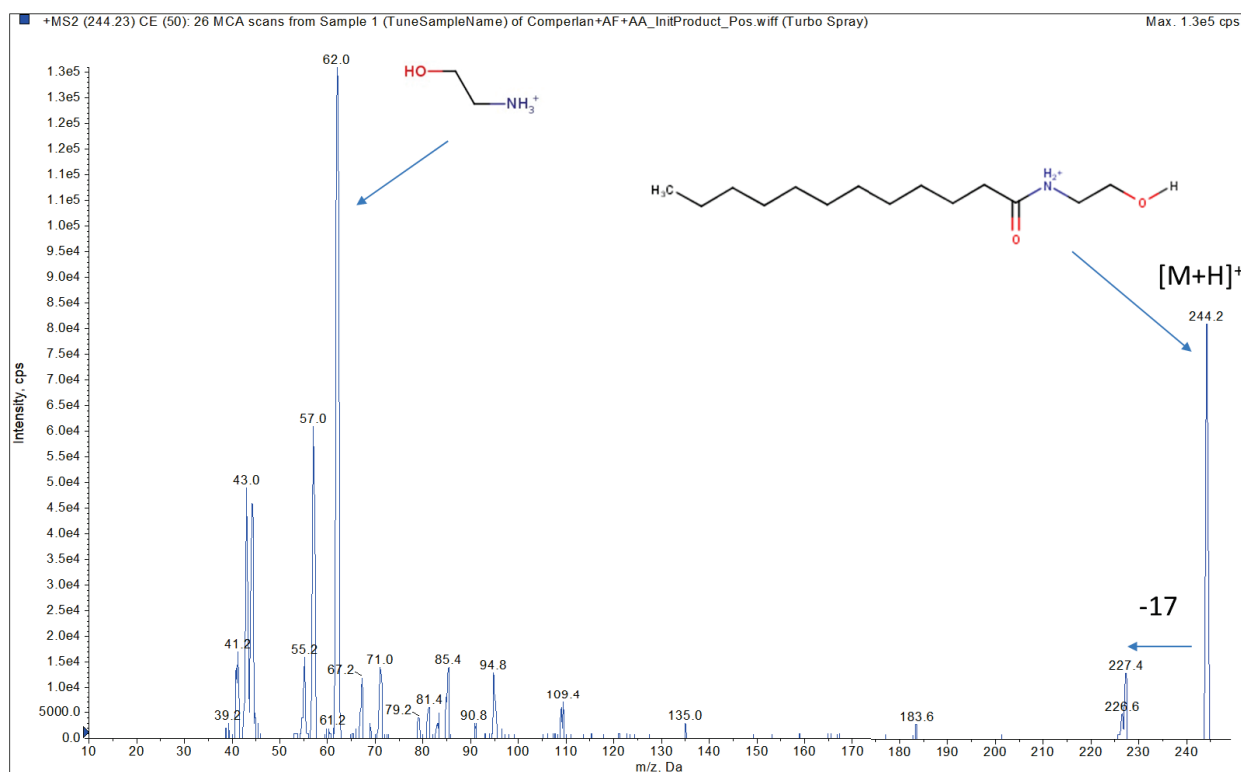
OP₁₀EO



OP₁₁EO



CMEA



[illegible]

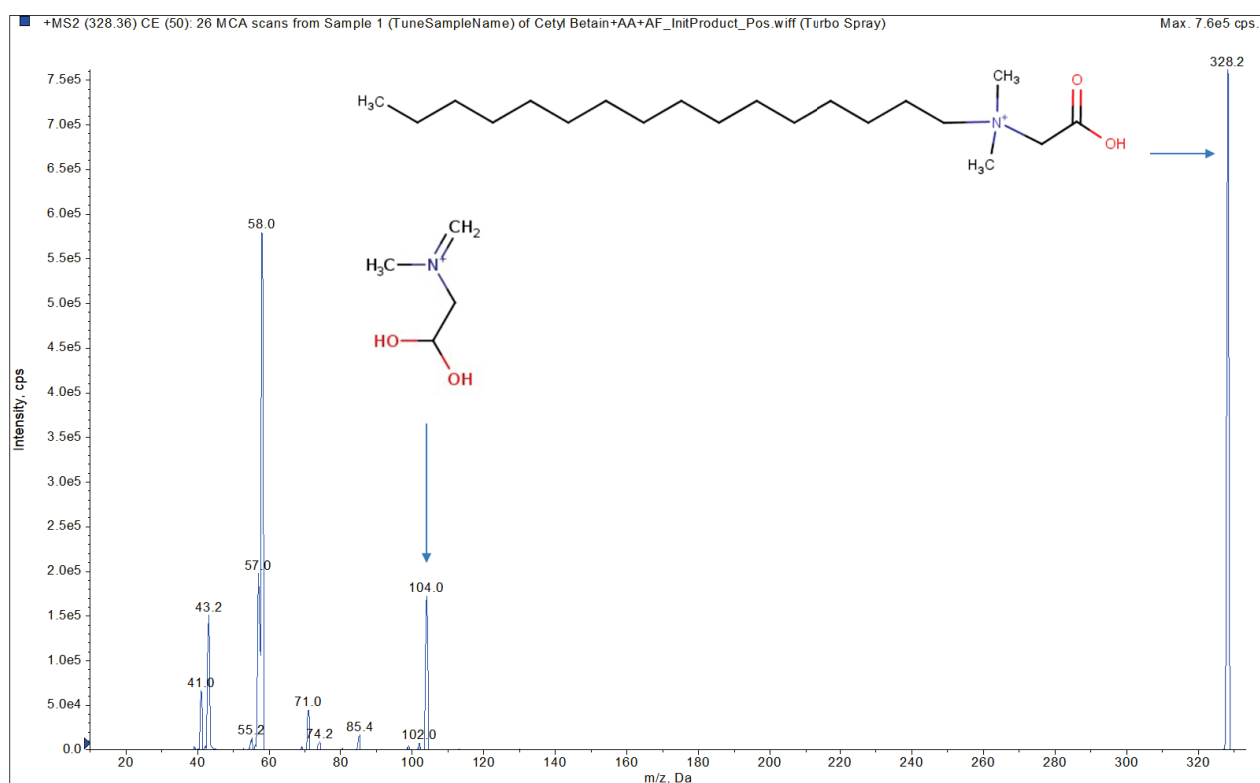
■ +MS2 (244.19) CE (35): 26 MCA scans from Sample 1 (TuneSampleName) of surfinol 104 NH4_InitProduct_Pos.wiff (Turbo Spray) Max. 3.2e5 cps.

Mass spectrum showing Intensity (cps) versus m/z (Da). The base peak is at m/z 191.0. Other significant peaks are labeled at m/z 43.0, 95.2, 135.2, 153.2, and 244.0. Chemical structures are shown for the precursor ion [M+NH₄]⁺ at m/z 244.0 and the product ion at m/z 191.0, with a loss of 18 Da indicated by a blue arrow.

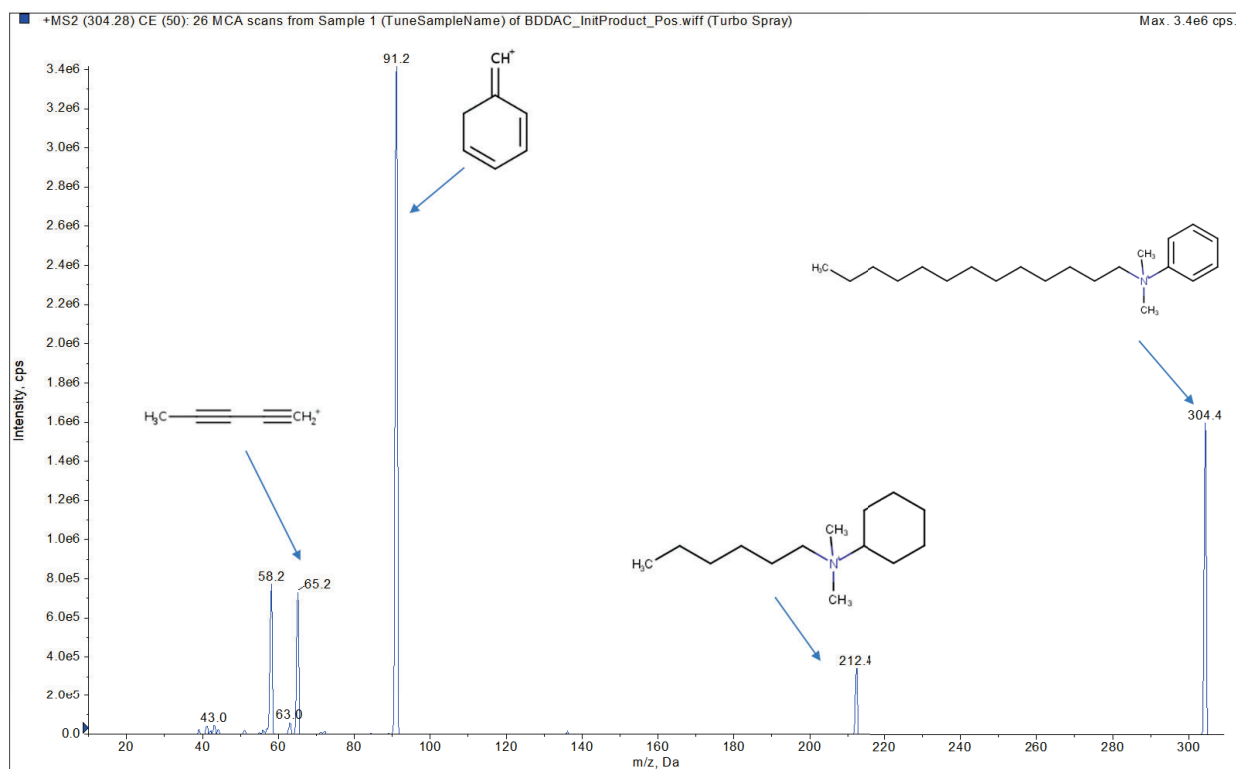
Chemical structures shown:

- Precursor ion [M+NH₄]⁺ at m/z 244.0: CC(C)CC(C)(O)C#CC(C)(O)CC(C)C
- Product ion at m/z 191.0: CC(C)CC(C)=CC#CC(C)C

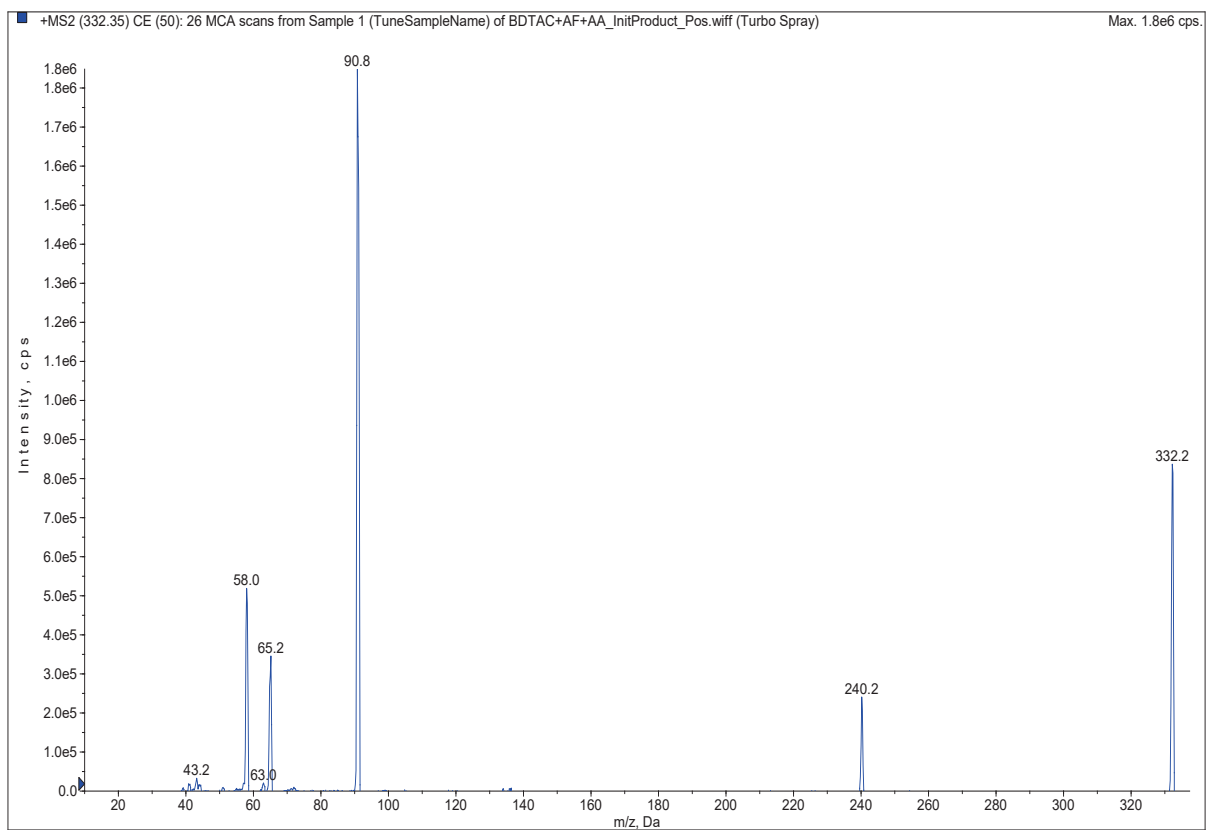
Cetylbetain



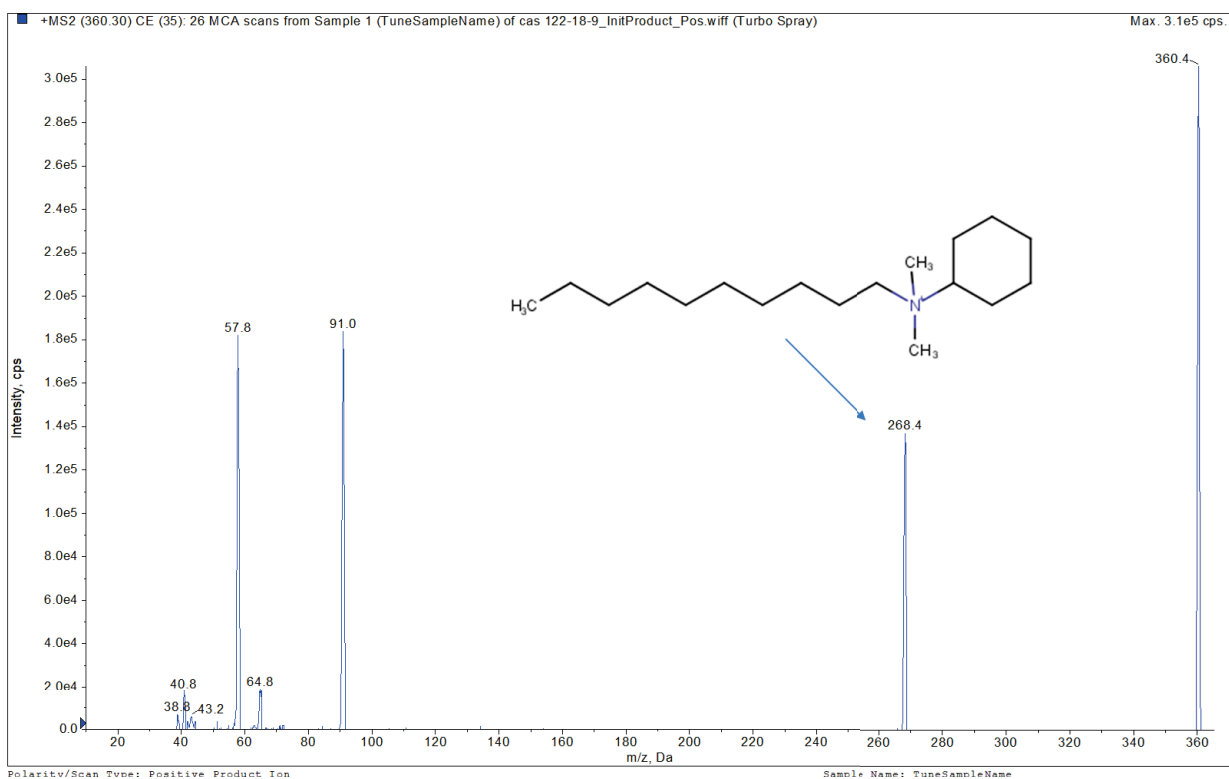
BAC-C₁₂



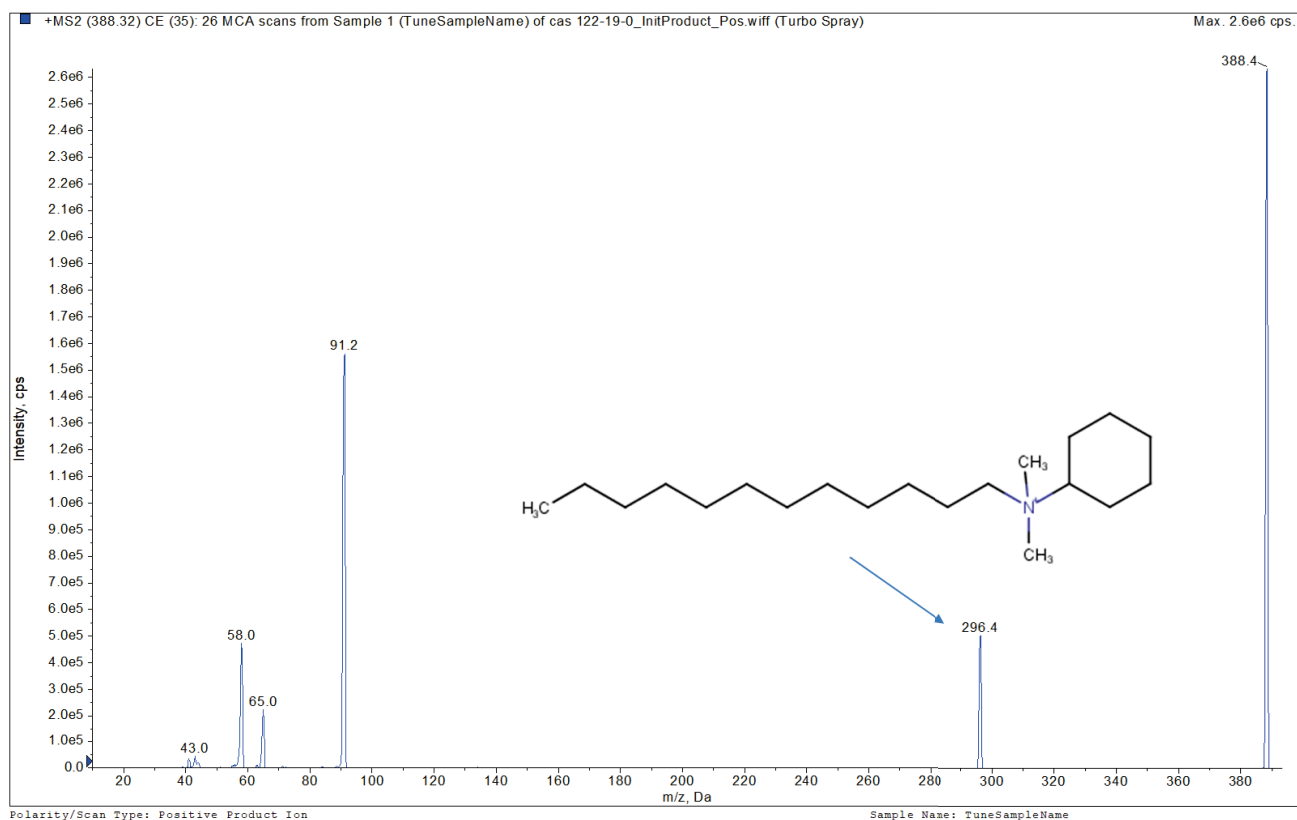
BAC-C₁₄



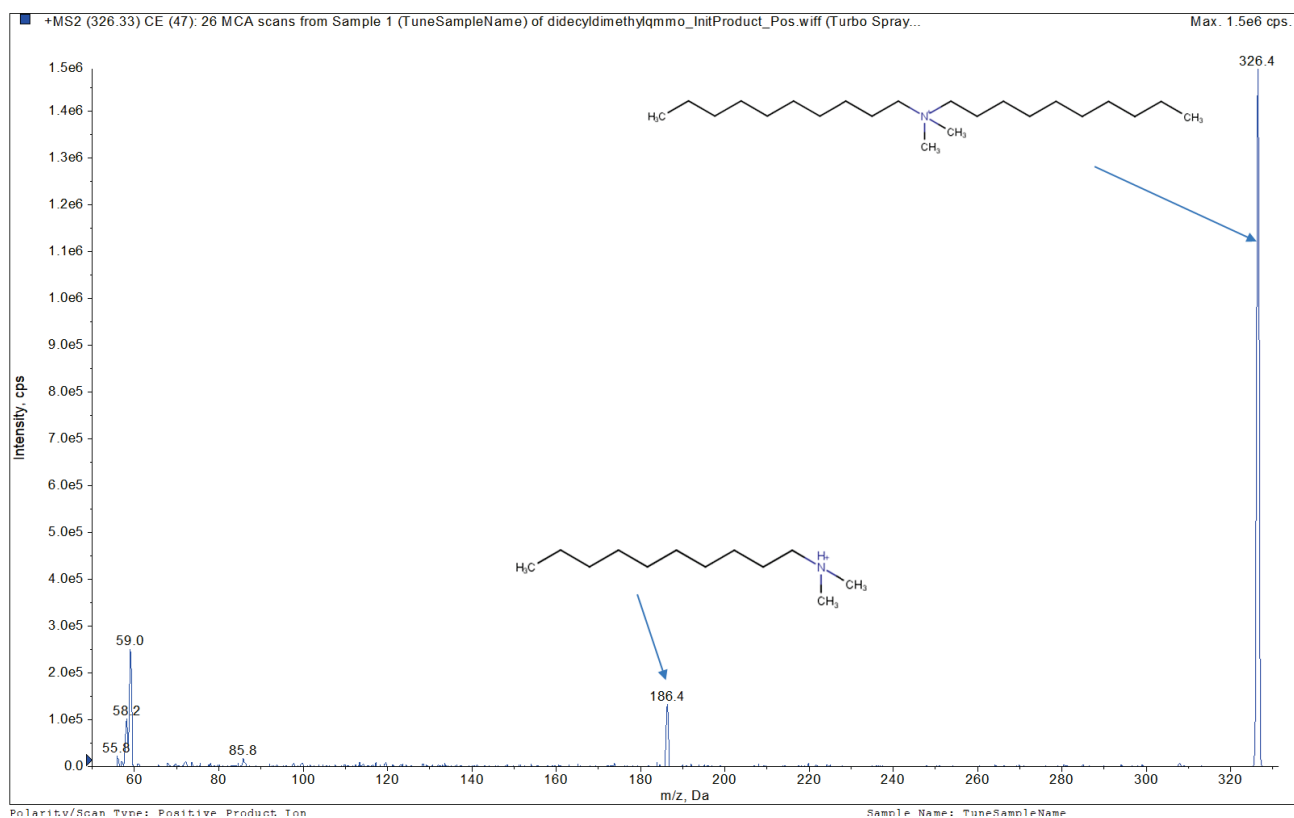
BAC-C₁₆



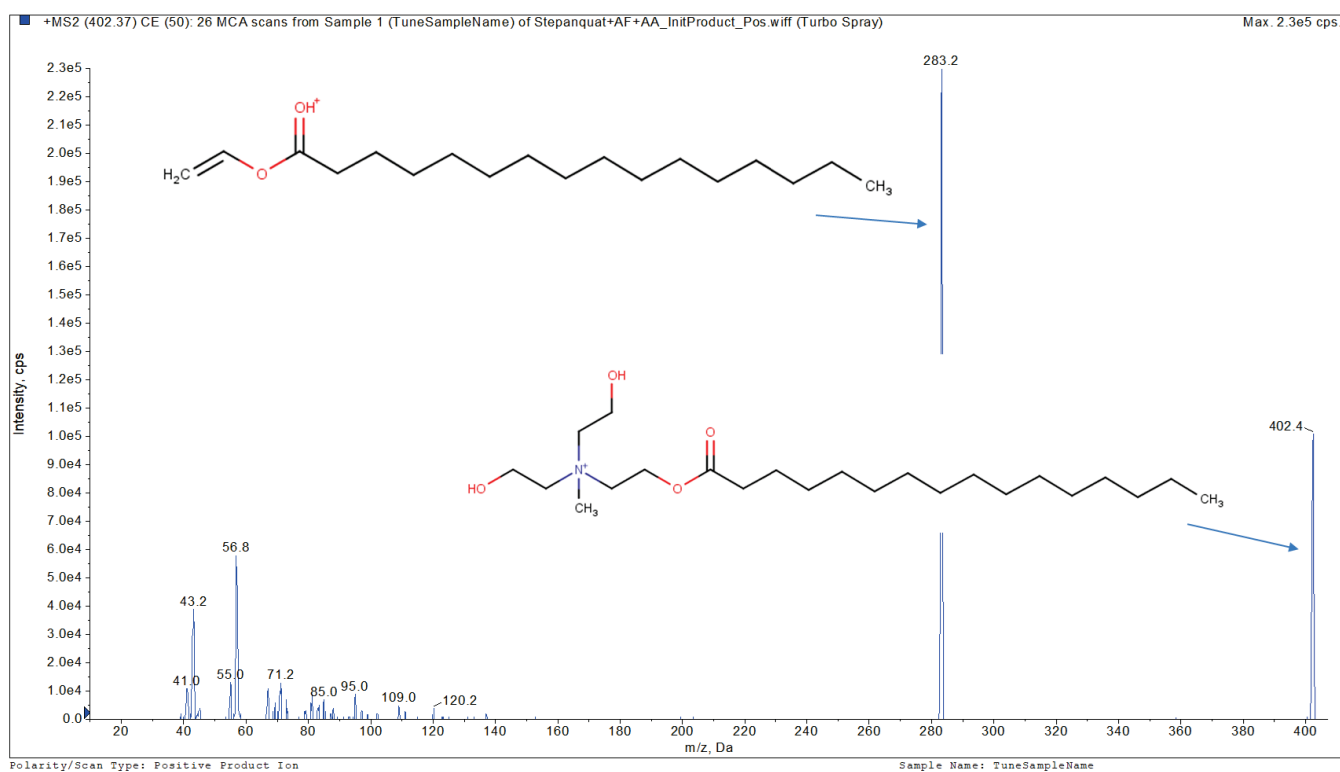
BAC-C₁₈



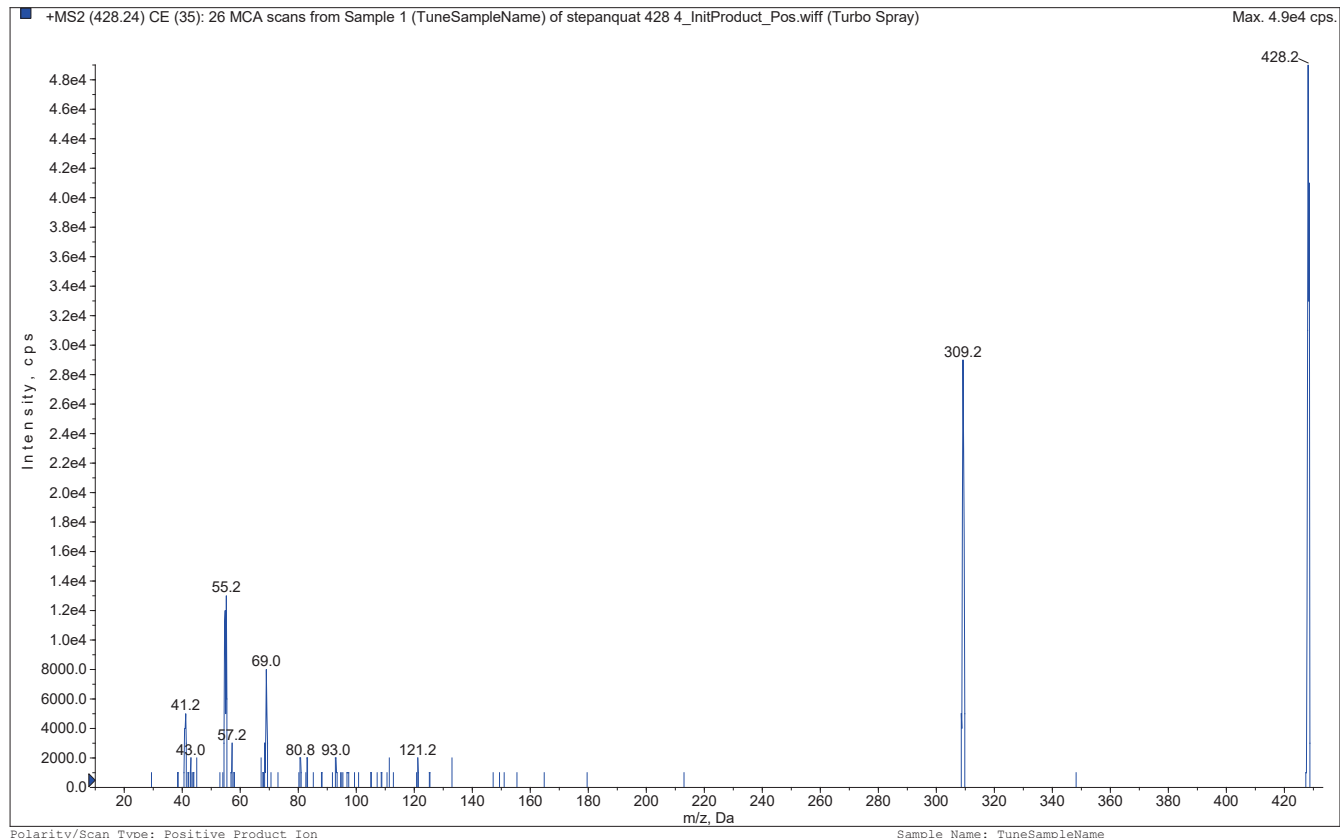
DDAC-C₁₀



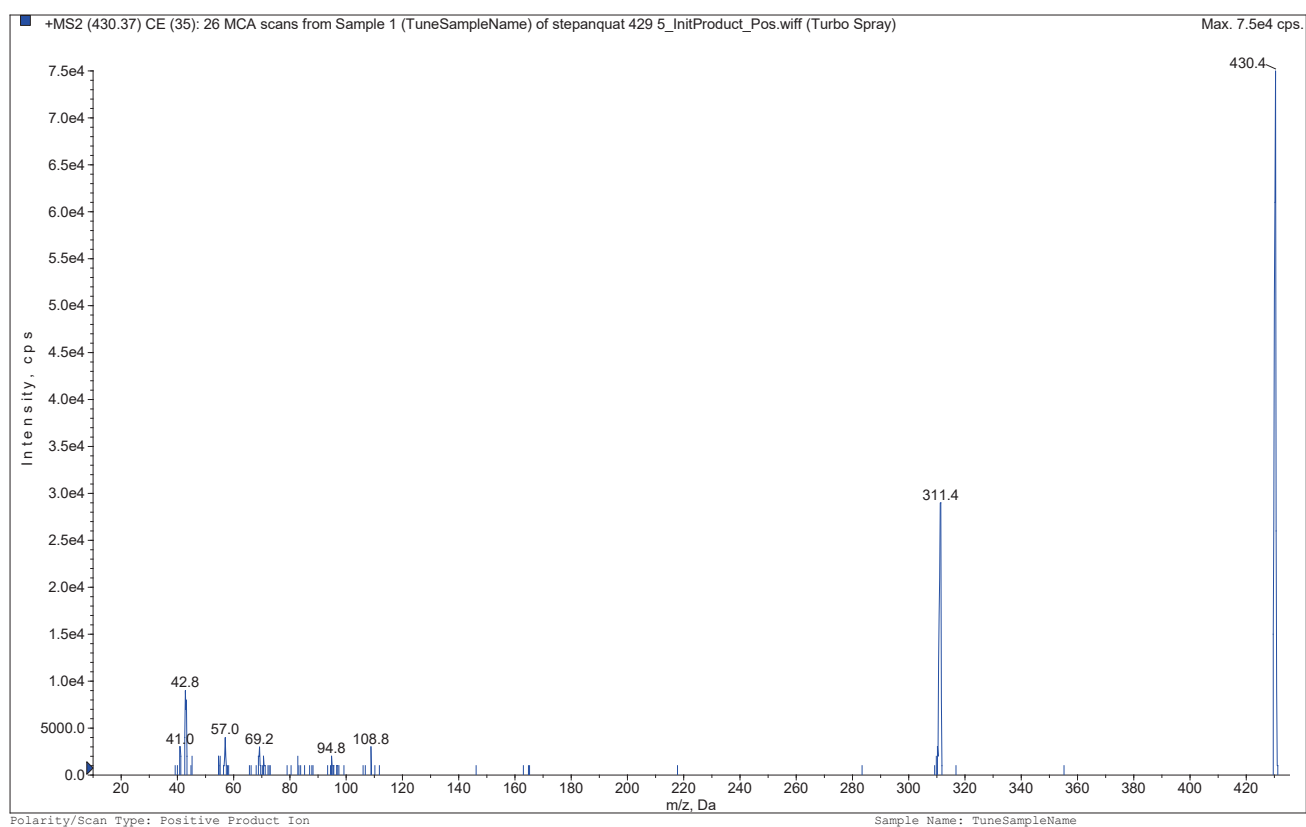
TEAQ-C₁₆



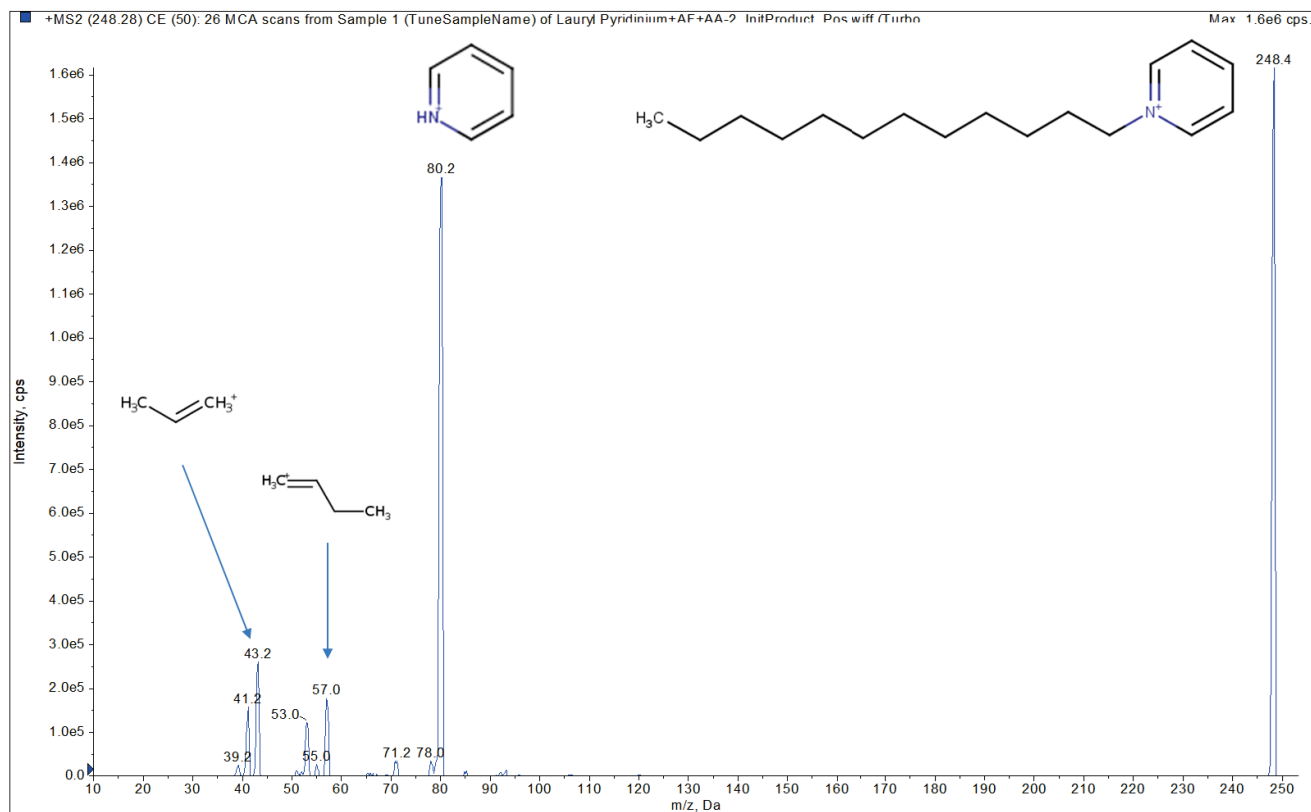
TEAQ-C₁₈ insat.



TEAQ-C₁₈ sat.



LaurPyr



Annexe 3 : Pourcentage massique des tensioactifs ciblés dans les étalons non purs

Fournisseur	Référence	Substance ciblée	Pourcentage relatif massique ^a (%)
Fisher Scientific	AC325905000 / ACROS Organics	LAS C10	4
		LAS C11	38
		LAS C12	34
		LAS C13	24
BOC Science	BCH8921-1	C ₁₂ EO ₀ S (SDS)	30
		C ₁₂ EO ₁ S	30
		C ₁₂ EO ₂ S	25
		C ₁₂ EO ₃ S	15
MERCK	108603 (TRITON X-100) Millipore	OP ₇ EO	10 ^b
		OP ₈ EO	15 ^b
		OP ₉ EO	15 ^b
		OP ₁₀ EO	15 ^b
		OP ₁₁ EO	15 ^b
BASF	Basocorr E 1005	TEAQ-C ₁₆	57
		TEAQ-C ₁₈ insat	31
		TEAQ-C ₁₈ sat	12

^aCalculé à partir des aires des pics obtenus en LC-MS

^bd'après DeArmond & DiGoregorio 2013

Annexe 4 : Méthode d'analyse dans l'eau – Phase dissoute

Généralités

Nom de la famille de substances	Tensioactifs anioniques, cationiques, non-ioniques et zwitterionique		
Nom des substances individuelles	Nom	SANDRE	Abréviation
	Acide benzène décyl sulfonique	8316	LAS C10
	Acide benzène undécyl sulfonique	8317	LAS C11
	Acide benzène dodécyl sulfonique	8318	LAS C12
	Acide benzène tridécyl sulfonique	8319	LAS C13
	Acide benzène tétradécyl sulfonique	8320	LAS C14
	1-laureth sulfate	8323	C12EO1S
	2-laureth sulfate	8324	C12EO2S
	Lauryl sulfate	5282	SDS
	Ethylhexyl sulfate	8327	EHS
	Dodécyl diméthyl benzyl ammonium	8297	BAC-C12
	Tétradécyl diméthyl benzyl ammonium	8298	BAC-C14
	Didécyl diméthyl ammonium	6636	DDAC-C10
	Stepanquat GA 90 (C16)	8328	TEAQ-C16
	Stepanquat GA 90 (C18)	8329	TEAQ-C18*
	Laurylpyridinium	8330	LaurPyr
	Triton X-100	8322	OPEO**
	N-(2-hydroxyéthyl)dodécanamide	8325	CMEA
	N-[3-(diméthylamino)propyl] octadécanamide	8326	SADP-DMA
	Surfynol 104	6649	TMDD
Hexadécylbétaine	8331	Cetyl bétaine	
* Comprend 2 homologues désignés (saturé (TEAQ-C18 sat) et monoinsaturé (TEAQ-C18))			
** Comprend 5 homologues désignés (OP ₇₋₁₁ EO avec n=7 à 11 groupements éthoxy)			
Code SANDRE des substances individuelles	Voir tableau ci-dessus		
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Eau [3] : Eau douce de surface Eau résiduaire		
Principe de la méthode	Extraction sur phase solide (SPE) et analyse par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse triple quadripôle avec une ionisation en électrospray (ESI) positive et négative (UPLC-MS/MS).		
Acronyme	SPE-UPLC-MS/MS		
Domaine d'application	Limite inférieure : LQ Limite supérieure : 50 µg/L		

Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	Sans objet
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	<p>Le méthanol, l'acétonitrile et l'eau sont de qualité LC-MS.</p> <p>La verrerie doit être d'abord nettoyée à l'eau, à l'acétone et à l'éthanol. La verrerie, y compris les tubes de récupération des extraits SPE, est ensuite calcinée à 450°C pendant 15 heures, avant toute utilisation.</p> <p>Les contaminations en tensioactifs liées au matériel de laboratoire, aux instruments d'analyse et aux opérateurs sont très fréquentes. Il faut vérifier régulièrement les blancs et établir un protocole de contrôle de contamination adapté (blanc méthode et blanc solvant, réalisés avec de l'eau Evian®, par série). Les substances les plus problématiques sont les LAS C10 à C13, les lauréth sulfates, les BAC et les Stepanquat GA 90. Une contamination en Triton X-100 de l'eau issue de système MilliQ a également été observée.</p> <p>Les BAC, DDAC et Stepanquat ont tendance à s'adsorber sur la flaconnerie. Les solutions mères doivent être préparées au minimum tous les 3 mois, et les solutions filles tous les mois.</p>
Interférents (préciser la matrice)	<p>Interférents identifiés : Aucun</p> <p>Matrices testées : Eau Evian® et eaux de surface</p>

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée :	Eau : Phase dissoute [3]
Conditionnement et conservation des échantillons - Protocole : - Nature du contenant de stockage : - Lavage du contenant : - Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :	<p>Les échantillons sont conservés à l'obscurité à 4°C et sont filtrés et extraits dès réception</p> <p>Verre ambré</p> <p>Contenant neuf, calciné à 450°C pendant 15 heures</p> <p>La stabilité des composés a été vérifiée dans une eau de source (Evian®) dopée à 10*LQ conservée à 4°C et à l'abri de la lumière pour des durées de 24h, 48h, 72h et 7 jours.</p>
Filtration : - Type de filtre et méthode de nettoyage : - Type de support de filtration :	<p>- Filtres Merck en fibre de verre sans liant, porosité de 0,7 µm, diamètre de 142 mm (préalablement calcinés 8 heures à 450 °C) ; entre chaque échantillon, le système de filtration est nettoyé à l'eau du robinet, puis eau distillée puis 250 mL d'eau Evian®</p> <p>- Système (IT30 142 HW) de Millipore</p>
Pré-traitement des échantillons liquide ou solide	Aucun

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)	Eau : Eau douce de surface 400 mL Effluent de STEP 250 mL									
Extraction - SPE (préciser le type de cartouche, la nature et les volumes des solvants de lavage et d'élution)	<p>Après filtration, prélever 450 mL d'échantillon dans un flacon en verre, préalablement calciné à 450°C pendant 15 h. Ajouter 2,25 mL d'une solution de traceurs d'étalons marqués au deutérium (Benzyltriméthylammonium-d5 Chloride (BDDA-d5) (100 µg/L), Hexadécylpyridinium-d5 Bromide (HexPyr-d5) (1000 µg/L), Sodium Dodécyl-d25 Sulfate (SDS-d25) (1000 µg/L))</p> <p>SPE sur Thermo Scientific™ AutoTrace™ 280 sur cartouche OASIS (Waters©) HLB 6mL, 150 mg :</p> <ul style="list-style-type: none">- conditionnement de la colonne par 8 mL de méthanol et 4 mL d'eau qualité LC-MS et 4 ml de tampon phosphate 0,1 M (pH=6)- percolation de l'échantillon (400 ou 250 mL) (à 10 mL/min)- rinçage de la colonne par 5 mL de tampon phosphate* 0,1M (pH 6)- séchage sous azote pendant 5 min- élution par 2 fois 5 mL d'acétonitrile dans un tube A- élution par 2 fois 5 mL d'acétonitrile/ NH4OH** 95/5 dans un tube B <p>Les extraits obtenus après SPE sont évaporés à sec sous flux d'azote. Les tubes bouchés sont conservés à -18°C. Le jour de l'injection, les extraits sont repris avec 800 µL d'un mélange acétonitrile/eau Evian®/NH4OH** 30/65/5.</p> <p>Entre chaque échantillon, les voies du système SPE sont nettoyées avec 10 mL à 10 mL/min de méthanol, puis un mélange de solvant (eau LC-MS, Isopropanol, Acétonitrile, Méthanol 25/25/25/25 auquel est ajouté 1% d'acide formique) et enfin de l'eau LC-MS.</p> <p>*13 mL de K2HPO4 à 1M et 87 mL de KH2PO4 à 1M, dans 1 L **Solution à 25% en NH4OH</p>									
Conservation de l'extrait	A sec, à -18°C (temps maximum de conservation : 1 mois)									
Volume ou masse finale avant analyse :	800 µL									
Méthode analytique utilisée : Indiquer les paramètres complets de la méthode (exemple pour la chromatographie : gradient, phase mobile, débit, T °C, colonne, mode de détection) Pour la détection par masse : mode d'ionisation et ions de quantification et de confirmation	<p>Colonne Poroshell 120 (Agilent©) C18 (50 mm x 2,1 mm i.d, 1,9 µm) avec un pré-filtre en ligne Krudkatcher (Phenomenex©).</p> <p><u>ESI Positive</u> Phase mobile : A (Eau LC-MS à 0,1% d'acide formique) et B (méthanol). Débit : 500 µL.min⁻¹</p> <table><tr><th>Temps (min)</th><th>A (%)</th><th>B(%)</th></tr><tr><td>3 (Equil.)</td><td>50</td><td>50</td></tr><tr><td>0</td><td>50</td><td>50</td></tr></table>	Temps (min)	A (%)	B(%)	3 (Equil.)	50	50	0	50	50
Temps (min)	A (%)	B(%)								
3 (Equil.)	50	50								
0	50	50								

5	0	100
7	0	100

Température de colonne : 50°C

Volume d'injection : 40 µL

Paramètres source electrospray et analyseurs : température interface : 100 °C, mode d'ionisation positif, tension de capillaire : + 5500 V, gaz de nébulisation : 50 psi, gaz séchant : 60 psi, température gaz séchant 450 °C, résolution unitaire.

Analytes et traceurs marqués	tR (min)	DP ¹	MRM quantif.	CE ²	MRM confirm.	CE ²
BAC-C12	2,78	51	304/91	45	304/212	27
BAC-C14	3,40	46	332/91	49	332/212	29
DDAC-C10	3,66	20	326/186	35	326/57	55
TEAQ-C16	3,82	56	402/283	31	402/57	65
TEAQ-C18	3,93	36	428/309	29	428/55	65
TEAQ-C18 sat.	4,23	46	430/311	35	430/57	73
LaurPyr	2,25	56	309/85	39	309/43	55
OP ₇ EO	3,94	46	532/89	41	532/133	33
OP ₈ EO	3,96	51	576/89	47	576/133	33
OP ₉ EO	3,98	61	620/89	51	620/133	37
OP ₁₀ EO	4,00	61	664/89	51	664/133	37
OP ₁₁ EO	4,02	66	708/89	51	708/133	41
CMEA	3,27	31	244/62	35	244/57	35
SADP-DMA	4,19	46	369/324	31	369/57	57
TMDD	2,65	11	244/191	11	244/153	11
Cetylβétaine	4,25	66	328/104	31	328/85	35
BDDA-d5	1,88	41	281/96	37	281/184	27
HexPyr-d5	3,63	56	309/85	39	309/43	55

¹Declustering potential (V)

²Collision energy (V)

ESI Négative

Phase mobile : A (Eau LC-MS à 1mM d'acétate d'ammonium) et B (méthanol).

Débit : 500 µL.min⁻¹

Temps (min)	A (%)	B(%)
3 (Equil.)	60	40
0	60	40
4	0	100
6	0	100

Température de colonne : 40°C

Volume d'injection : 20 µL

Paramètres source electrospray et analyseurs : température interface : 100 °C, mode d'ionisation négatif, tension de capillaire : - 4200 V, gaz de nébulisation : 50 psi, gaz séchant : 55 psi, température gaz séchant 500 °C, résolution unitaire.

	<table><tr><th>Analytes et traceurs marqués</th><th>tR (min)</th><th>DP¹</th><th>MRM quantif.</th><th>CE²</th><th>MRM confirm.</th><th>CE²</th></tr><tr><td>LAS C10</td><td>3,41</td><td>-75</td><td>297/119</td><td>-62</td><td>297/184</td><td>-38</td></tr><tr><td>LAS C11</td><td>3,60</td><td>-80</td><td>311/183</td><td>-48</td><td>311/119</td><td>-68</td></tr><tr><td>LAS C12</td><td>3,81</td><td>-85</td><td>325/183</td><td>-48</td><td>325/119</td><td>-70</td></tr><tr><td>LAS C13</td><td>3,97</td><td>-95</td><td>339/183</td><td>-50</td><td>339/119</td><td>-72</td></tr><tr><td>LAS C14</td><td>4,11</td><td>-70</td><td>353/183</td><td>-50</td><td>353/119</td><td>-76</td></tr><tr><td>C12EO1S</td><td>3,53</td><td>-60</td><td>309/97</td><td>-44</td><td>309/80</td><td>-78</td></tr><tr><td>C12EO2S</td><td>3,62</td><td>-65</td><td>353/97</td><td>-48</td><td>353/80</td><td>-88</td></tr><tr><td>SDS</td><td>3,34</td><td>-65</td><td>265/97</td><td>-36</td><td>265/80</td><td>-82</td></tr><tr><td>EHS</td><td>1,71</td><td>-55</td><td>209/97</td><td>-32</td><td>209/80</td><td>-60</td></tr><tr><td>SDS-d25</td><td>3,27</td><td>-65</td><td>290/98</td><td>-38</td><td>290/80</td><td>-84</td></tr></table> <p>¹Declustering Potential (V) ²Collision Energy (V)</p>	Analytes et traceurs marqués	tR (min)	DP ¹	MRM quantif.	CE ²	MRM confirm.	CE ²	LAS C10	3,41	-75	297/119	-62	297/184	-38	LAS C11	3,60	-80	311/183	-48	311/119	-68	LAS C12	3,81	-85	325/183	-48	325/119	-70	LAS C13	3,97	-95	339/183	-50	339/119	-72	LAS C14	4,11	-70	353/183	-50	353/119	-76	C12EO1S	3,53	-60	309/97	-44	309/80	-78	C12EO2S	3,62	-65	353/97	-48	353/80	-88	SDS	3,34	-65	265/97	-36	265/80	-82	EHS	1,71	-55	209/97	-32	209/80	-60	SDS-d25	3,27	-65	290/98	-38	290/80	-84
Analytes et traceurs marqués	tR (min)	DP ¹	MRM quantif.	CE ²	MRM confirm.	CE ²																																																																								
LAS C10	3,41	-75	297/119	-62	297/184	-38																																																																								
LAS C11	3,60	-80	311/183	-48	311/119	-68																																																																								
LAS C12	3,81	-85	325/183	-48	325/119	-70																																																																								
LAS C13	3,97	-95	339/183	-50	339/119	-72																																																																								
LAS C14	4,11	-70	353/183	-50	353/119	-76																																																																								
C12EO1S	3,53	-60	309/97	-44	309/80	-78																																																																								
C12EO2S	3,62	-65	353/97	-48	353/80	-88																																																																								
SDS	3,34	-65	265/97	-36	265/80	-82																																																																								
EHS	1,71	-55	209/97	-32	209/80	-60																																																																								
SDS-d25	3,27	-65	290/98	-38	290/80	-84																																																																								
Equipements (modèles utilisés) :	Chromatographie liquide ultra haute performance Agilent 1290 Spectromètre de masse Sciex API 3200 QTRAP (triple quadrupole linéaire)																																																																													
Type d'étalonnage	Gamme extraite dans la matrice Matrice : Eau de source (bouteille en verre Evian®)																																																																													
Modèle utilisé Etalons / Traceurs utilisés	Linéaire Traceurs de méthodes globales (étalons marqués par un isotope) : - ESI positive : Benzyltriméthyldecylammonium-d5 Chloride, Hexadecylpyridinium-d5 Bromide - ESI negative: Sodium Dodecyl-d25 Sulfate																																																																													
Domaine de concentration	0,5*LQ – 10*LQ																																																																													
Méthode de calcul des résultats Rendement Blancs	Etalonnage en matrice (eau Evian®) Matrice utilisée : eau Evian® Réaliser un blanc méthode avec une eau de source (bouteille en verre Evian®) dans les mêmes conditions que les échantillons.																																																																													

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée Domaine de validation	NF T90-210 (2009) De la LQ à 10*LQ
Matériaux de référence utilisés	Sans objet
Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)	Les blancs méthode doivent être vérifiés régulièrement et ne doivent pas dépasser la valeur de 0,5*LQ pour chaque composé.
Rendement	La détermination des rendements n'est pas indispensable avec le protocole défini ici, puisque la quantification est systématiquement réalisée à partir d'une gamme extraite, prenant donc en compte les rendements d'extraction.

Limite de quantification(LQ)
(indiquez la méthode de
détermination en précisant la
matrice testée)

Limites de quantification validées selon la norme NF T90-210 avec
5*2 séries de dopages d'eau de source (Evian®) (précision
intermédiaire et répétabilité) et test d'exactitude (LQ +/- 60 % x LQ)-.

Substances	Eau de surface LQ (ng/L)	Eau de rejet LQ (ng/L)
LAS C10	15	24
LAS C11	113	181
LAS C12	101	162
LAS C13	72	115
LAS C14	120	190
C12EO1S	430	688
C12EO2S	340	544
SDS	485	776
EHS	50	70
BAC-C12	60	96
BAC-C14	40	64
DDAC-C10	50	80
TEAQ-C16	280	450
TEAQ-C18	210	340
LaurPyr	30	50
OPEO	100	160
CMEA	100	160
SADP-DMA	50	80
TMDD	100	160
Cetylbétaïne	100	160

Incertitudes (%) sur les résultats
- par type de matrice

- par niveau de concentration

- par molécule

(reproductibilité avec méthode de
détermination)

Selon NF T90-210 (2009)

Eau de source (bouteille en verre Evian®)
dopée à la limite de quantification et à 10*LQ

Substances	Incertitude élargie, k=2 (%)	
	à LQ	à 10*LQ
LAS C10	35	20
LAS C11	50	15
LAS C12	30	25
LAS C13	35	20
LAS C14	30	10
C12EO1S	40	10
C12EO2S	40	25
SDS	35	20
EHS	50	5
BAC-C12	30	10
BAC-C14	30	25
DDAC-C10	50	25
TEAQ-C16	30	30
TEAQ-C18	30	30
LaurPyr	30	10
OPEO	40	20
CMEA	30	15

SADP-DMA	20	5
TMDD	40	15
Cetyl ­ b ­ etaine	35	15

Contacts

Auteurs

Laure Wiest, Barbara Giroud

Institut

Institut des Sciences Analytiques de Lyon

Contact

Laure.wiest@isa-lyon.fr

Annexe 5 : Méthode d'analyse dans les sédiments

Généralités

Nom de la famille de substances	Tensioactifs anioniques, cationiques, non-ioniques et zwitterionique		
Nom des substances individuelles	Nom	SANDRE	Abbréviation
	Acide benzène décyl sulfonique	8316	LAS C10
	Acide benzène undécyl sulfonique	8317	LAS C11
	Acide benzène dodécyl sulfonique	8318	LAS C12
	Acide benzène tridécyl sulfonique	8319	LAS C13
	Acide benzène tétradécyl sulfonique	8320	LAS C14
	1-laureth sulfate	8323	C12EO1S
	2-laureth sulfate	8324	C12EO2S
	Lauryl sulfate	5282	SDS
	Ethylhexyl sulfate	8327	EHS
	Dodécyl diméthyl benzyl ammonium	8297	BAC-C12
	Tétradécyl diméthyl benzyl ammonium	8298	BAC-C14
	Hexadécyl diméthyl benzyl ammonium	8299	BAC-C16
	Octadécyl diméthyl benzyl ammonium	8300	BAC-C18
	Didecyl diméthyl ammonium	6636	DDAC-C10
	Stepanquat GA 90 (C16)	8328	TEAQ-C16
	Stepanquat GA 90 (C18)	8329	TEAQ-C18*
	Laurylpyridinium	8330	LaurPyr
	Triton X-100	8322	OPEO**
	N-(2-hydroxyéthyl)dodécanamide	8325	CMEA
	N-[3-(diméthylamino)propyl] octadécanamide	8326	SADP-DMA
	Surfynol 104	6649	TMDD
	Héxadécylbétaine	8331	Cetyl bétaine
<p>* Comprend 2 homologues désignés (saturé (TEAQ-C18 sat) et monoinsaturé (TEAQ-C18))</p> <p>** Comprend 5 homologues désignés (OP₇₋₁₁EO avec n=7 à 11 groupements ethoxy)</p>			
Code SANDRE des substances individuelles	Voir tableau ci-dessus		
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Sédiment [6] en eau de surface continentale		
Principe de la méthode	Extraction solide-liquide assistée par ultrasons (US-SLE) et analyse par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse triple quadripôle avec une ionisation en électrospray (ESI) positive et négative (UPLC-MS/MS).		
Acronyme	US-SLE-UPLC-MS/MS		

Domaine d'application	Limite inférieure : LQ Limite supérieure : 200 µg/kg
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	Granulométrie et teneur en matière organique (perte au feu).
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	<p>Le méthanol, l'acétonitrile et l'eau sont de qualité LC-MS. La verrerie doit être d'abord nettoyée à l'eau, à l'acétone et à l'éthanol. La verrerie est ensuite calcinée à 450°C pendant 15 heures, avant toute utilisation.</p> <p>Les contaminations en tensioactifs liées au matériel de laboratoire, aux instruments d'analyse et aux opérateurs sont très fréquentes. Il faut vérifier régulièrement les blancs et établir un protocole de contrôle de contamination adapté (blanc méthode et blanc solvant, réalisés avec du sable de Fontainebleau calciné à 450°C, pendant 15h, par série). Les substances les plus problématiques sont les LAS C10 à C13, les laureth sulfates, les BAC et les Stepanquat GA 90. Une contamination en Triton X-100 de l'eau issue de système MilliQ a également été observée.</p> <p>Les BAC, DDAC et Stepanquat ont tendance à s'adsorber sur la flaconnerie. Les solutions mères doivent être préparées au minimum tous les mois.</p>
Interférents (préciser la matrice)	Interférents identifiés : Aucun Matrices testées : sable de Fontainebleau calciné, sédiment et matières en suspension

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée :	Particule < 2 mm de sédiments [32]
Conditionnement et conservation des échantillons - Protocole : - Nature du contenant de stockage : - Lavage du contenant : - Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :	<p>Les échantillons sont conservés à l'obscurité à -18°C</p> <p>Verre ambré, bouché avec aluminium calciné</p> <p>Contenant neuf, calciné à 450°C pendant 15 heures</p> <p>Non réalisée</p>
Pré-traitement des échantillons liquide ou solide	Lyophilisation et tamisage à 2 mm

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)	500 mg de sédiment sec, broyé et tamisé
---	---

Extraction

- Solide / Liquide (préciser la nature et le volume du solvant)

Prélever 500 mg d'échantillon dans un tube en verre de 12 mL, préalablement calciné à 450°C pendant 15 h.

Ajouter 100 µL d'une solution de traceurs d'étalons marqués au deutérium (Benzyltriméthylammonium-d5 Chloride (BDDA-d5) (100 µg/L), Hexadécylpyridinium-d5 Bromide (HexPyr-d5) (1000 µg/L), Sodium Dodécyl-d25 Sulfate (SDS-d25) (1000 µg/L)), vortexer 30 s et laisser évaporer une nuit, sous hotte, à l'obscurité.

Ajouter 3 mL d'une solution 90/10 [acétonitrile à 1% d'acide acétique] / [eau Evian® à 0,1 M EDTA]

Vortexer 15 sec, passer aux ultrasons 15 min à 50°C puis centrifuger 10 min à 5000 rpm

Prélever le surnageant dans un nouveau tube calciné -> extrait 1

Ajouter de nouveau 3 mL d'une solution 90/10 [acétonitrile à 1% d'acide acétique] / [eau Evian® à 0,1 M EDTA]

Vortexer 15 sec et passer aux ultrasons 15 min à 50°C puis centrifuger 10 min à 5000 rpm

Prélever le surnageant et l'ajouter à l'extrait 1

Les extraits obtenus après SLE sont évaporés à sec sous flux d'azote à 40°C. Les tubes bouchés avec un septum en caoutchouc sont conservés à -18°C.

Le jour de l'analyse, les extraits sont repris avec 1 mL d'un mélange acétonitrile/eau Evian®/NH₄OH* 30/65/5. Les tubes sont vortexés 15 sec, puis passés 10 min aux ultrasons, et 5 min à la centrifugeuse à 5000 rpm. Enfin, le surnageant est prélevé dans un vial pour injection.

*Solution à 25% en NH₄OH

Conservation de l'extrait

A sec, à -18°C (temps maximum de conservation : 1 mois)

Volume ou masse finale avant analyse :

1 mL

Méthode analytique utilisée :

Indiquer les paramètres complets de la méthode (exemple pour la chromatographie : gradient, phase mobile, débit, T °C, colonne, mode de détection)

Pour la détection par masse : mode d'ionisation et ions de quantification et de confirmation

Colonne Poroshell 120 (Agilent®) C18 (50 mm x 2,1 mm i.d, 1,9 µm) avec un pré-filtre en ligne Krudkatcher (Phenomenex®).

ESI Positive

Phase mobile : A (Eau LC-MS à 0,1% d'acide formique) et B (méthanol).

Débit : 500 µL.min⁻¹

Temps (min)	A (%)	B(%)
3 (Equil.)	50	50
0	50	50
5	0	100
7	0	100

Température de colonne : 50°C

Volume d'injection : 20 µL

Paramètres source electrospray et analyseurs : température interface : 100 °C, mode d'ionisation positif, tension de capillaire : + 5500 V, gaz de nébulisation : 50 psi, gaz séchant : 60 psi, température gaz séchant 450 °C, résolution unitaire.

Analytes et traceurs marqués	tR (min)	DP ¹	MRM quantif.	CE ²	MRM confirm.	CE ²
BAC-C12	2,69	51	304/91	45	304/212	27
BAC-C14	3,37	46	332/91	49	332/240	29
BAC-C16	3,88	86	360/268	31	360/91	59
BAC-C18	4,33	56	388/91	53	388/58	65
DDAC-C10	3,62	20	326/186	35	326/57	55
TEAQ-C16	3,80	56	402/283	31	402/57	65
TEAQ-C18	3,93	36	428/309	29	428/55	65
TEAQ-C18 sat.	4,26	46	430/311	35	430/57	73
LaurPyr	2,25	66	248/80	33	248/57	37
OP7EO	3,87	46	532/89	41	532/133	33
OP8EO	3,90	51	576/89	47	576/133	33
OP9EO	3,92	61	620/89	51	620/133	37
OP10EO	3,93	61	664/89	51	664/133	37
OP11EO	3,95	66	708/89	51	708/133	41
CMEA	3,21	31	244/62	35	244/57	35
SADP-DMA	4,36	46	369/324	31	369/57	57
TMDD	2,58	11	244/191	11	244/153	11
Cetylbétaïne	4,21	66	328/104	31	328/85	35
BDDA-d5	1,81	41	281/96	37	281/184	27
HexPyr-d5	3,75	56	309/85	39	309/43	55

¹Declustering potential (V)

²Collision energy (V)

ESI Négative

Phase mobile : A (Eau LC-MS à 1mM d'acétate d'ammonium) et B (méthanol).

Débit : 500 µL.min⁻¹

Temps (min)	A (%)	B(%)
3 (Equil.)	60	40
0	60	40
4	0	100
6	0	100

Température de colonne : 40°C

Volume d'injection : 10 µL

Paramètres source electrospray et analyseurs : température interface : 100 °C, mode d'ionisation négatif, tension de capillaire : - 4200 V, gaz de nébulisation : 50 psi, gaz séchant : 55 psi, température gaz séchant 500 °C, résolution unitaire.

	Analytes et traceurs marqués	tR (min)	DP ¹	MRM quantif.	CE ²	MRM confirm.	CE ²
	LAS C10	3,35	-75	297/119	-62	297/183	-38
	LAS C11	3,57	-80	311/183	-48	311/119	-68
	LAS C12	3,77	-85	325/183	-48	325/119	-70
	LAS C13	3,94	-95	339/183	-50	339/119	-72
	LAS C14	4,09	-70	353/183	-50	353/119	-76
	C12EO1S	3,49	-60	309/97	-44	309/80	-78
	C12EO2S	3,58	-65	353/97	-48	353/80	-88
	SDS	3,29	-65	265/97	-36	265/80	-82
	EHS	1,60	-55	209/97	-32	209/80	-60
	SDS-d25	3,24	-65	290/98	-38	290/80	-84
¹ Declustering Potential (V)							
² Collision Energy (V)							
Equipements (modèles utilisés) :	Chromatographie liquide ultra haute performance Agilent 1290 Spectromètre de masse Sciex API 3200 QTRAP (triple quadrupole linéaire)						
Type d'étalonnage	Gamme extraite dans la matrice Matrice : Sable de Fontainebleau calciné à 450°C pendant 15h						
Modèle utilisé Etalons / Traceurs utilisés	Linéaire Traceurs de méthode globales (étalons deutérés) : - ESI positive : Benzyltriméthyldecylammonium-d5 Chloride, Hexadecylpyridinium-d5 Bromide - ESI negative: Sodium Dodecyl-d25 Sulfate						
Domaine de concentration	0,5*LQ – 10*LQ						
Méthode de calcul des résultats Rendement	Etalonnage en matrice (Sable de Fontainebleau calciné à 450°C pendant 15h)						
Blancs	Matrice utilisée : Sable de Fontainebleau calciné à 450°C pendant 15h Réaliser un blanc méthode avec du sable de Fontainebleau calciné à 450°C pendant 15h, dans les mêmes conditions que les échantillons.						

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée Domaine de validation	NF T90-210 (2009) De la LQ à 10*LQ
Matériaux de référence utilisés	Aucun matériau de référence n'existe
Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)	Les blancs méthode doivent être vérifiés régulièrement et ne doivent pas dépasser la valeur de 0,5*LQ pour chaque composé.
Rendement	La détermination des rendements n'est pas indispensable avec le protocole défini ici, puisque la quantification est systématiquement réalisée à partir d'une gamme extraite, prenant donc en compte les rendements d'extraction.

Limite de quantification(LQ)
(indiquez la méthode de
détermination en précisant la
matrice testée)

Limites de quantification validées selon la norme NF T90-210 avec
5*2 séries de dopages d'eau de source (Evian®) (précision
intermédiaire et répétabilité) et test d'exactitude ($LQ \pm 60 \% \times LQ$).

Substances	Sédiment LQ (µg/kg)
LAS C10	6,4
LAS C11	49
LAS C12	44
LAS C13	31
LAS C14	32
C12EO1S	158
C12EO2S	124
SDS	123
EHS	11
BAC-C12	27
BAC-C14	18
BAC-C16	28
BAC-C18	34
DDAC-C10	40
TEAQ-C16	59
TEAQ-C18	44
LaurPyr	105
OPEO	48
CMEA	13
SADP-DMA	39
TMDD	42
Cetylβétaine	21

Incertitudes (%) sur les résultats
- par type de matrice

- par niveau de concentration

- par molécule
(reproductibilité avec méthode de
détermination)

Selon NF T90-210 (2009)
Sable de Fontainebleau calciné à 450°C pendant 15h
dopé à la limite de quantification

Substances	Incertitude élargie, k=2 (%) à LQ
LAS C10	20
LAS C11	30
LAS C12	45
LAS C13	40
LAS C14	10
C12EO1S	35
C12EO2S	30
SDS	20
EHS	40
BAC-C12	10
BAC-C14	20
BAC-C16	40
BAC-C18	40

DDAC-C10	25
TEAQ-C16	30
TEAQ-C18	40
LaurPyr	20
OPEO	20
CMEA	30
SADP-DMA	40
TMDD	30
Cetyl ­ b ­ etaine	25

Contacts

Auteurs

Laure Wiest, Barbara Giroud

Institut

Institut des Sciences Analytiques de Lyon

Contact

Laure.wiest@isa-lyon.fr