

Université de Strasbourg
Master mention « Chimie »
Spécialité « Sciences Analytiques »

Etude des sous-produits de chloration dans les eaux du Grand Canal d'Alsace

Antoine GODFREY

Année universitaire : 2017-2018

Sous la direction de : Mourad Elhabiri

Travail co-supervisé par Matthieu Chessé



UMR 7042

Laboratoire d'Innovation
Moléculaire et Applications



Résumé

L'utilisation de l'eau du Grand Canal d'Alsace (GCA) dans les systèmes de refroidissement de la centrale nucléaire de production d'électricité (CNPE) de Fessenheim pourrait avoir un impact sur la qualité de l'eau. En effet, le chlore, ajouté à l'eau fluviale des tuyaux de refroidissement pour éviter les développements de souillures biologiques, peut réagir avec la matière organique pour former une large gamme de composés appelés sous-produits de chloration. Ces réactions peuvent être en outre catalysées par la présence de métaux tels que le cuivre. Les trihalométhanes (THM) connus pour leur toxicité et leur persistance font partie de ces sous-produits de chloration. Dans le cadre de la mise en place d'un observatoire pluridisciplinaire du socio-écosystème autour du CNPE de Fessenheim, nous nous sommes proposé d'évaluer l'impact d'un site industriel tel que le CNPE de Fessenheim sur la qualité des eaux du Rhin. Dans cette étude, une méthode de quantification des THM a été mise au point par GC-FID combiné à la technique SPME. La méthode a été utilisée afin de déterminer les quantités de THM dans plusieurs échantillons d'eaux prélevés à proximité de la centrale nucléaire de Fessenheim. Aucun trihalométhane n'a été détecté parmi ces échantillons.

Mots-clés : Chlore, Pollution, trihalométhanes, GC-FID, SPME, CNPE de Fessenheim

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Dr. Mourad Elhabiri, Directeur de Recherche au CNRS, pour m'avoir permis de réaliser ce stage dans son équipe de recherche. Je tiens à exprimer mes remerciements pour sa grande disponibilité et pour l'aide qu'il m'a apporté tout au long de ce stage.

Je souhaite également remercier monsieur Matthieu Chessé, ingénieur d'étude au CNRS, pour ses explications et ses conseils.

Je tiens à exprimer vivement ma reconnaissance pour le temps et l'aide qu'ils ont tout deux consacrés au cours de ce stage mais également lors de la rédaction de mon rapport de stage.

Enfin, je remercie toute l'équipe de Chimie Bio(IN)organique et Médicinale pour son accueil chaleureux.

Liste des abréviations

THM : trihalométhanes

GC-FID : chromatographie en phase gazeuse coupée à un détecteur à ionisation de flamme

FID : détecteur à ionisation de flamme

ECD : détecteur à capture d'électrons

CNPE : centre nucléaire de production d'électricité

SPC : sous-produits de chloration

EDF : électricité de France

ASN : Autorité de Sûreté Nucléaire

GCA : Grand Canal d'Alsace

IARC : international agency for research on cancer

NQE : norme qualité environnemental

EI : étalon interne

GC : chromatographe en phase gazeuse

SPME : Solid Phase Micro Extraction (micro extraction en phase solide)

LD : limite de détection

LQ : limite de quantification

AOX : composés organohalogénés

RSD : relative standard deviation (coefficient de variation)

Sommaire

Résumé

Remerciements

Avant-propos

Introduction

I. Les sous-produits de chloration

1. Les trihalométhanes
2. Facteurs favorisant la formation des THM
3. Valeurs seuils

II. Zone d'étude

1. Le Grand Canal d'Alsace (GCA)
2. Le CNPE de Fessenheim
3. Sites de prélèvements

III. Matériels et méthodes

1. Les techniques de préparation des échantillons
2. Micro extraction en phase solide (SPME)
3. Paramètres de la GC-FID
4. Prélèvement et conservation des échantillons de terrain
5. Méthode expérimentale

IV. Résultats

1. Optimisation des paramètres en GC-FID
2. Optimisation des paramètres en SPME
3. Validation de la méthode d'analyse
4. Analyse des échantillons de terrain

V. Discussion

1. Optimisation des paramètres en GC-FID
2. Optimisation des paramètres en SPME
3. Validation de la méthode d'analyses
4. Effets de matrices
5. Concentrations en THM dans les échantillon de terrain

Conclusion et perspectives

VI. Bibliographie

VII. Annexes

Avant propos

Présentation du laboratoire

Le stage a été réalisé au sein du Laboratoire d'Innovation Moléculaire et Applications (LIMA – UMR 7042) et plus précisément dans l'équipe de Chimie Bio(IN)organique et Médicinale. Les recherches sont orientées selon trois axes principaux :

- Chimie médicinale : Développement de composés ayant un fort potentiel de lutter contre certains pathogènes spécifiques.
- Enzymologie et équilibre redox : étude des interactions entre des médicaments et des cellules cibles.
- Physico-chimie et électrochimie : développement de méthodes analytiques appliqués à l'étude de composés redox et à une meilleure compréhension de leurs mécanismes d'action.

Contribution personnelle

Le stage, d'une durée de 20 semaines, a débuté le 05 février et s'est achevé le 22 juin.

Il a débuté avec la rédaction d'une synthèse bibliographique visant à rassembler des informations sur le CNPE de Fessenheim, les trihalométhanes et les méthodes de détections. Des informations sur les acides haloacétiques ont également été rassemblées mais la priorité était l'étude des trihalométhanes. A l'issue de plusieurs réunions, une technique fut choisie. Il a ensuite fallu déterminer les différents besoins en matériels et consommables en vue de l'établissement d'une liste d'achat. La commande est partie fin février et les colis sont arrivés de manière éparsée pendant le mois de mars. La GC-FID utilisé par d'autres chercheurs était disponible à partir de fin mars.

L'adaptation de la GC-FID pour la SPME s'est accompagnée de nombreuses difficultés. En résumé, un défaut du septum adapté à la SPME a provoqué la destruction d'une fibre puis l'utilisation d'un septum classique (en attendant un nouveau septum SPME) a provoqué la destruction des deux autres fibres du lot. C'est à partir de début avril que les essais ont commencé en injection liquide. Après des discussions avec le fabricant, un nouveau septum et lot de fibre a été commandé. En attendant, des essais d'extraction liquide/liquide ont été réalisés en injection liquide dans une hypothétique optique de combiner ELL avec une GC-ECD qui serait peut-être acquise/disponible dans un futur proche. Ces essais ont été arrêtés début mai car la GC-FID a été modulée avec succès et les essais en SPME ont pu enfin débiter. Plus de 120 essais en SPME avec deux fibres seront réalisés entre le 04 mai et le 15 juin sans difficultés majeures. Une approche d'étude cinétique de la formation des THM fut envisagée mais abandonnée par manque de temps.

Introduction

Le projet d'observatoire du socio-écosystème (SES) du site de Fessenheim «Juxta Rhenum» (projet IDeX Consolidation 2018-2019 de l'Université de Strasbourg) a pour ambition de faire émerger autour du CNPE de Fessenheim, un observatoire pluridisciplinaire permettant de définir le fonctionnement environnemental, sociétal et économique de ce SES. L'objectif ambitieux de ce projet est la mise en place d'une méthodologie globale permettant de suivre son évolution dans le cadre des politiques de transition énergétique.



Image 1 : vue aérienne du CNPE de Fessenheim [23]

Le CNPE de Fessenheim mis en service en 1977 est la première centrale nucléaire française en exploitation commerciale. [7] Elle a été construite en bordure du Grand Canal d'Alsace et se situe dans la commune de Fessenheim dans le département du Haut-Rhin. Le Grand Canal d'Alsace est un ouvrage artificiel d'environ 50 km creusé parallèlement au Rhin entre Kembs et Vogelgrun. [12]

Les rejets du CNPE de Fessenheim sont bien connus mais pour certains encore mal quantifiés. Il s'agit de rejets radioactifs, chimiques et thermiques sous formes gazeuse ou liquide. [6] L'étude des rejets doit permettre de mieux comprendre les aspects environnementaux liés à l'exploitation du CNPE de Fessenheim. Il ne s'agit pas de se focaliser sur les rejets radioactifs car ceux-ci sont rigoureusement contrôlés et surveillés par EDF et l'ASN. Les données sur les rejets chimiques sont quant à elles moins nombreuses et certains rejets ne sont pas quantifiés ou seulement mesurés de manière ponctuelle.

L'installation de Fessenheim évacue l'excès de chaleur lié au fonctionnement de ses réacteurs par un condensateur en circuit ouvert. Ce processus s'effectue par des prélèvements puis des rejets de quantités importantes d'eau sur le grand canal d'Alsace. [6] L'usure des tubages en laiton des circuits de refroidissement a potentiellement provoqué des rejets de cuivre et de zinc qui ont pu s'accumuler dans les sédiments. Les tubages en laiton ont été progressivement remplacés par de l'acier inoxydable à partir de 2002. L'acier inoxydable contrairement au laiton n'a pas de propriétés biocides. Depuis, l'exploitant doit réaliser des traitements chimiques afin d'éviter le développement d'organismes vivants dans les circuits de refroidissement des condensateurs. Ils sont réalisés par ajout massif d'eau de javel (hypochlorite de sodium) dans les circuits. [6]

L'hypochlorite de sodium est un composé qui réagit rapidement avec plusieurs constituants de l'eau du milieu naturel (brome, matière organique, ...) provoquant la formation de composés organohalogénés (AOX). Parmi ceux-ci se trouvent notamment les trihalométhanes représentés essentiellement par le chloroforme.

Les rejets de chlore et de cuivre dans un cours d'eau contenant de la matière organique pourraient donc être à l'origine de formation de sous-produits de chloration et plus particulièrement de trihalométhanes. [19]

L'objectif de ce stage de Master a été de mettre en place une méthode analytique adaptée permettant la détection voir la quantification de THM dans des échantillons de terrain provenant du GCA. L'idée sous-jacente de ce projet serait d'utiliser éventuellement les THM comme un traceur de l'évolution du CNPE de Fessenheim.

I. Les sous-produits de chloration

La formation des sous-produits de chloration résulte de la désinfection de l'eau par l'utilisation de dérivés chlorés. Le chlore réagit avec des constituants de l'eau (brome, ammoniacque et matières organiques) pour former des composés organohalogénés (AOX). Les différents facteurs influant sur leur formation seront décrits par la suite. [5]

Près de 600 sous-produits de chloration ont pu être identifiés à ce jour. [5] La famille des acides haloacétiques et des THM sont les deux familles dominantes en termes de quantité. Les THM peuvent représenter jusqu'à 20% de la masse totale des sous-produits de chloration (SPC). [5]

La découverte précoce des THM en 1974 parmi les SPC en a fait la famille la plus connue. L'abondance des données sur leurs présences dans les réseaux d'eau et leurs toxicités avérées a conduit à les considérer comme traceurs pertinents pour l'étude des SPC. [5]

1. Les trihalométhanes

Les THM regroupent les dérivés halogénés trisubstitués du méthane : le chloroforme (CHCl_3), le bromodichlorométhane (CHBrCl_2), le dibromochlorométhane (CHBr_2Cl) et le bromoforme (CHBr_3). Ils sont tous volatils à l'exception du bromoforme et relativement peu solubles dans l'eau. [Annexe1]

Le chloroforme est le principal THM formé en eau douce. Il peut atteindre jusqu'à 90 % du poids de tous les THM. Cette proportion varie essentiellement en fonction de la teneur en bromure qui peut entraîner la formation des sous-produits bromés. [8] Il existe d'autres types de THM, en particulier les iodo-THM mais ils sont présents en très faibles quantités et ceux-ci ne sont pas réglementés. [5]

La persistance du chloroforme varie fortement en fonction des conditions environnementales. Le chloroforme possède un temps de demi-vie de 1850 ans à pH 7. Dans l'air sa durée de demi-vie passe à 105 jours du fait des réactions photochimiques. Lors de biodégradations, sa durée de demi-vie peut être diminuée à environ 14 jours. Il est peu soluble dans l'eau et très mobile dans les sols. [9]

2. Facteurs favorisant la formation des THM

Les principaux facteurs qui influencent la formation des THM sont : la matière organique, les ions bromures, le chlore libre, le pH, la température ainsi que les effets de saisons. [5]

Matière organique

La matière organique naturelle comprend un ensemble de molécules pouvant servir de précurseurs à la formation des THM. Les précurseurs principaux sont les acides humiques, les acides fulviques et les

acides non-humiques. La concentration et la nature de la matière organique ont une forte influence sur la formation des THM. Les acides humiques qui se caractérisent par la présence de cycles aromatiques présentent un fort potentiel formateur pour les THM. Une concentration élevée en acides fluviqques favorise fortement la formation des THM. Les voies de synthèses aboutissant à la formation des THM sont nombreuses. [5]

Ions bromures

Les ions bromures sont naturellement présents du fait de la dissolution de formations géologiques ou de leur introduction en raison d'activités humaines. L'utilisation de bromure de méthyle dans les cultures, l'épandage de sels en hiver et les rejets d'effluents d'égouts ou d'industries sont plusieurs sources pouvant provoquer une augmentation de la concentration en ions bromures dans un fleuve comme le Rhin. [10] Différentes interactions entre les ions bromures et le chlore favorisent la formation des THM. Le chlore agit sur les ions bromure (Br^-) provoquant leur oxydation en brome (Br_2). Le brome a un rôle de catalyseur lors de l'oxydation de la matière organique par le chlore. Ensuite, c'est la compétition entre le chlore et le brome lors de l'halogénéation de la matière organique qui aboutit aux formes bromées des THM. [5]

pH

Un milieu alcalin favorise généralement la formation des SPC. Une hausse du pH provoque une augmentation des concentrations en THM par rapport à d'autres SPC. [5]

Température

La température permet le franchissement de la barrière d'activation (E_a) et influe sur la cinétique de formation des THM. Une augmentation celle-ci entraîne une augmentation de la vitesse de la réaction. Cependant, l'effet de la température finit par disparaître avec la durée de la réaction. Cela semble indiquer que la température influe sur la cinétique mais qu'elle ne modifie pas l'équilibre final. [5]

Variations saisonnières

Dans les pays tempérés, les niveaux moyens de THM sont plus élevés en été et plus faibles en hiver. Il y a potentiellement un facteur allant de 1,5 à 2. Ces variations sont dues à une combinaison de plusieurs facteurs cités précédemment. Il se produit un changement de qualité de l'eau brute (matière organique, température, ...) qui a de forte conséquence sur la formation des THM. [5]

3. Valeurs seuils

La découverte en 1974 des SPC dans les réseaux d'eau potable a entraîné la mise en œuvre de nombreuses études afin de mieux caractériser leurs propriétés toxicologiques et épidémiologiques. Leurs propriétés toxicologiques sont avérées et plusieurs études épidémiologiques ont montré une corrélation entre SPC et certains cancers chez l'homme. [5] **[Annexe2]** Le chloroforme et le bromodichlorométhane sont classés 2B par l'IARC, c'est à dire potentiellement cancérigène chez l'homme. [20]

Les quantités maximales autorisées ou recommandées en THM varient en fonction du type d'eau : eau de consommation, eau de surface ou eau pour activités sportives. Les seuils les plus élevés dans les réseaux de distribution correspondent à un compromis entre la nécessité d'avoir une eau sans pathogènes tout en minimisant la présence des THM. Les seuils les plus bas dans les eaux de rivières visent à réduire le risque d'exposition chronique pour les organismes aquatiques. [5] [11]

En France, les THM font l'objet de réglementations et de programmes de surveillance depuis 2003. La réglementation la plus récente date de 2008 et exige que la somme des quatre THM n'excède pas 100 µg/L dans les réseaux d'eau potable. [5] La norme qualité environnementale du 12 août 2013 pour le chloroforme est de 2,5 µg/L en moyenne annuelle pour les eaux douces et côtières. [11]

Les concentrations maximales mesurées par EDF dans le milieu aquatique ont pu atteindre 2 µg/L à proximité du CNPE de Dampierre situé sur la Loire, taux étant en dessous de la NQE. [6]

II. Zone d'étude

1. Le grand canal d'Alsace (GCA)



Carte 1 : Aménagements hydroélectriques sur le Rhin [24]

Le GCA a été construit entre 1925 et 1977 et se situe parallèlement au Rhin naturel. Ce canal a une longueur d'environ 50 km entre Kembs et Vogelgrun. Le canal comprend dix centrales hydroélectriques comprenant quatre chutes d'eaux. Le CNPE de Fessenheim se trouve en bordure de du canal à 16 km de Vogelgrun. [12]

Les sources de rejets de chlore ou de dérivés chlorés sont nombreuses sur le GCA. L'exploitation de minerai de potasse par la société des Mines de Potasse d'Alsace jusqu'à 2003 génèrait de grande quantité de sels. Le sel ne pouvant être valorisé était rejeté sous forme d'eaux saumâtre dans le Rhin via un saumoduc. L'élimination d'anciens terrils de sels continue aujourd'hui via le saumoduc mais avec des rejets moindres. [13] Plusieurs stations d'épurations,

dont les processus de désinfection nécessitent l'utilisation de chlore ou de dérivés chlorés, sont également présentes en amont. Les plus importantes étant celle de Village-Neuf et celle de Sausheim qui gère les eaux usées de Mulhouse. [14]

2. Le CNPE de Fessenheim

L'installation de Fessenheim comprend deux réacteurs à eau pressurisée d'une puissance de 900 mégawatts électriques chacun. Dans une centrale nucléaire, les réactions de fissions au niveau des réacteurs produisent de l'énergie thermique dont un tiers seulement peut être convertie en électricité. Le reste de l'énergie thermique est évacué via des condensateurs. [6]

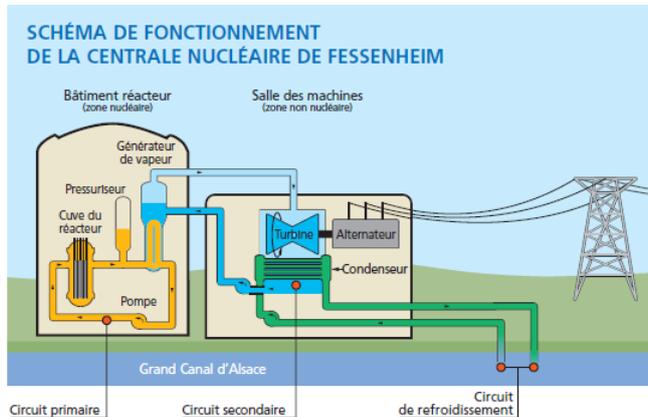


Schéma 1 : Fonctionnement de la centrale nucléaire de Fessenheim [25]

Les condensateurs de Fessenheim sont alimentés par les eaux du Grand Canal d'Alsace dont le débit est suffisant pour un fonctionnement en circuit ouvert. Le fonctionnement en circuit ouvert permet le transfert intégral de l'énergie thermique des condensateurs vers le milieu aquatique. La majorité des autres centrales fonctionnent en circuit fermé où l'énergie thermique est transférée vers l'atmosphère via des tours de refroidissement. [6]

Le fonctionnement en circuit ouvert de Fessenheim implique un prélèvement d'eau en moyenne dix fois

supérieur à ceux des autres CNPE fonctionnant en circuit fermé (Cattenom et Chooz par exemple) situé sur le bassin Rhin-Meuse. [15]

Les tubages du système de refroidissement installés lors de la construction de Fessenheim étaient en laiton. L'usure des tubages a provoqués des rejets importants de cuivre et de zinc à partir de 1977. Les tubages ont été progressivement remplacés par de l'acier inoxydable à partir de 2002 pour le réacteur Fessenheim 1 et 2011 pour le réacteur Fessenheim 2. [6] Il est très probable qu'une partie de ces rejets continus sur 25 ans aient pu s'accumuler au sein de sédiments. L'étude de ces rejets dans les sédiments fera l'objet d'une autre étude dans le cadre du projet Juxta Rhenum. En outre, la connaissance des taux de cuivre (eaux et sédiments qui fait l'objet d'une autre étude menée dans le cadre de ce projet) pourra être intéressante étant donné son possible rôle catalytique lors de la formation des THM. [19]

Les circuits d'eau brute sont soumis à des salissures biologiques pouvant provoquer leur colmatage. Le phénomène s'est accru avec le remplacement du laiton par de l'acier inoxydable car celui-ci n'a pas de propriétés biocides. Les salissures biologiques sont principalement des organismes vivants de grande taille (moules, bryozoaires, ...) qui se fixent sur les parois des circuits véhiculant l'eau. D'autres organismes (légiennelles principalement) peuvent former un biofilm sur la surface interne des tubes provoquant une réduction des échanges thermiques. Le principal moyen de lutte contre ces organismes est le traitement biocide par chloration massive à l'hypochlorite de sodium à forte teneur (50 mg/L). [6]

Ces traitements réalisés occasionnellement sur les réacteurs refroidis en circuit fermé conduisent à des rejets de chlore libre résiduel. La procédure de traitement n'autorise l'ouverture de la purge du circuit que si la concentration en chlore libre est inférieure à 0,1 mg/L en équivalent Cl_2 . Les rejets en

chlore libre sont limités mais des composés organohalogénés formés dans le circuit sont également rejetés par la suite lors de l'ouverture de la purge. [6]

Il n'y a pas de données pour Fessenheim concernant les rejets de THM. La seule donnée trouvée est le taux de 2 µg/L à proximité du CNPE de Dampierre qui est en dessous de la NQE. Cependant, le CNPE de Dampierre fonctionne en circuit fermé avec l'utilisation de tours de refroidissement, ce qui implique une consommation plus réduite en eau fluviale venant de la Loire. [6] Les traitements biocides y sont peut être également moins importants ou moins fréquents. Cette donnée n'est pas connue. Cependant, le CNPE de Dampierre possède quatre réacteurs ce qui peut impliquer une plus grande quantité de tubages à traiter. Il y a beaucoup de facteurs qui peuvent entrer en jeu comme la composition chimique de l'eau brute, la nature des souillures biologiques, etc.

L'hypothèse de départ qui est à l'origine de ce stage de recherche est que les taux de THM à proximité du CNPE de Fessenheim soient équivalents ou plus élevés que ceux mesurés à proximité du CNPE de Dampierre.

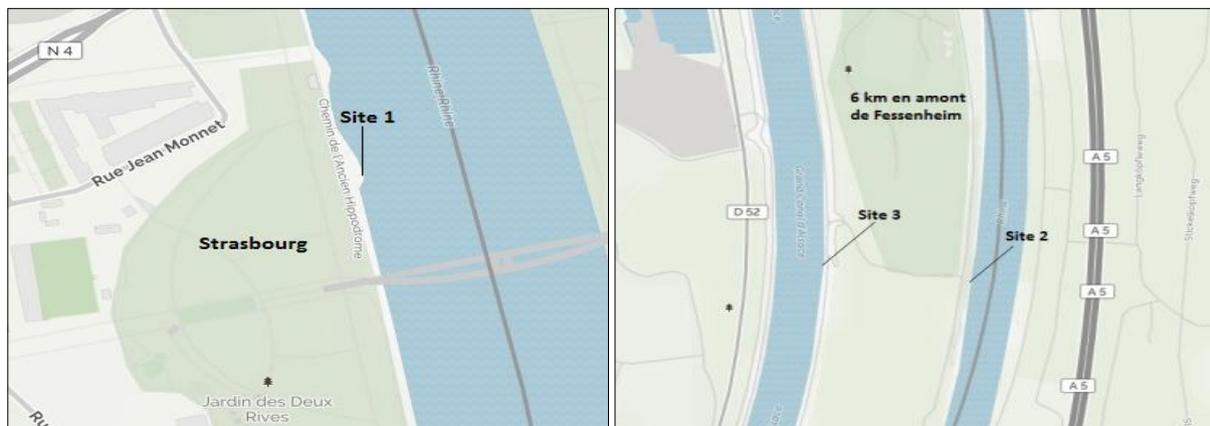
3. Sites de prélèvements

Deux sites de prélèvements situés à Strasbourg ont tout d'abord été sélectionnés pour les premiers essais lors de la validation de notre méthode analytique. Le premier est situé sur le canal du Faux-Rempart tandis que le second est situé sur le Rhin en face de Kehl.

Autour du site d'intérêt, le choix des sites de prélèvements a été réalisé de manière à distinguer les rejets liés du CNPE de Fessenheim par rapport à ceux liés à des activités minières et/ou industrielles situées à proximité du GCA ou en amont sur le Rhin.

Les prélèvements sur le GCA ont été réalisés sur 8 sites différents. Au niveau de Kembs, deux sites pour des mesures en amont du GCA et du vieux Rhin. Au niveau de Vogelgrun, deux sites pour des mesures en aval du GCA et du vieux Rhin. Il y a quatre sites situés à proximité du CNPE de Fessenheim : deux en amont et deux en aval. Les quatre derniers sites choisis doivent permettre de déterminer l'influence exacte de Fessenheim sur la production de THM.

Figure 1 : localisation des différents sites de prélèvements (carte réalisée à partir de MapQuest)





III. Matériel et méthodes

1. Les techniques de préparation des échantillons

Il existe de nombreuses techniques de préparation des échantillons pour l'analyse des THM. Elles possèdent chacune des avantages, des inconvénients et des limites. Il a donc été nécessaire de choisir la technique la plus sensible car la NQE pour une eau de rivière est de 2.5 µg/L [11]. Il a également fallu prendre en considération la sensibilité moindre d'une détection FID (détecteur à ionisation de flamme) par rapport à d'autres détecteurs comme l'ECD (détecteur à capture d'électrons) ou la spectrométrie de masse en mode SIM. De même que Le coût financier. Dans le cadre de ce travail, nous avons privilégié une technique GC-FID disponible au sein de notre unité que nous avons adapté (changement de colonne, technique SPME, ...). La GC-ECD, bien que de meilleure sensibilité, n'était malheureusement pas disponible. Les différentes techniques régulièrement décrites pour l'analyse des THM sont les suivantes :

Extraction liquide-liquide (ELL)

Le processus d'ELL consiste à transférer les analytes de la phase aqueuse vers une phase organique. Celle-ci est ensuite injectée directement dans le chromatographe en phase gazeuse. Les solvants organiques d'extraction utilisés dans plusieurs publications sont le pentane, l'hexane, l'octanol ou methyl ter-butyl ether (MTBE). La technique atteint le seuil visé mais elle impliquerait l'utilisation d'un détecteur ECD ou d'un spectromètre de masse fonctionnant en mode SIM (Single Ion Monitoring). [3] A priori, l'utilisation de cette technique avec un détecteur FID ne permet pas d'atteindre un seuil de quantification en dessous de 2.5 µg/L.

Extraction en phase solide (SPE)

La SPE est une méthode de concentration et de purification. Elle consiste à faire passer un volume important d'échantillon au travers d'une cartouche contenant une phase adsorbante sélective. Les analytes adsorbés sont ensuite solubilisés dans un solvant organique. L'inconvénient de cette technique est l'extraction concomitante d'impuretés qui présente un risque d'accroissement du bruit

de fond. Elle nécessite un investissement conséquent en appareillage et en consommables car les cartouches d'extraction ne sont pas réutilisables. [4]

Purge and Trap

La technique dynamique de l'espace de tête consiste à faire passer un gaz porteur au travers d'un échantillon liquide afin de favoriser le transfert des analytes volatils vers l'espace de tête. Les analytes sont alors piégés sur une phase adsorbante puis désorbés dans le système chromatographe. Il est alors possible d'analyser les analytes sans les interférences créées par les composés non volatils présents dans la matrice. [3] Cependant, cette technique est également assez coûteuse et les risques de fuites et de contaminations de pièges adsorbants ne sont pas négligeables. [4]

2. La micro-extraction en phase solide (SPME)

La micro-extraction en phase solide (SPME en anglais) a été développée par Arthur et Pawlitzyn à la fin des années 1980. [4] Elle est commercialisée par Sepulco depuis 1993.



Image 2 : Dispositif SPME avec déploiement de la fibre

La SPME est une méthode de concentration et d'extraction sans solvant capable d'améliorer les limites de détections. Le système SPME qui ressemble à une micro-seringue se divise en deux parties : une fibre en silice fondue de 1 cm de long, recouverte d'une phase polymérique d'un diamètre allant de 7 à 100 μm et un piston en acier au bout duquel est fixé la fibre. Le piston permet le coulissement de la fibre dans une aiguille cylindrique. [4]

Le système SPME peut être introduit soit directement dans un échantillon liquide ou soit exposé à l'espace de tête lors de la phase d'extraction. La technique de l'espace de tête est plus adaptée pour des analyses dans des matrices complexes. La désorption des analytes se fait par voie thermique en insérant la fibre dans l'injecteur du chromatographe en phase gazeuse. [4]

La technique s'apparente à la chromatographie d'adsorption. Lors d'une introduction directe, un équilibre de distribution se forme entre la matrice et la phase stationnaire adsorbante qui recouvre la fibre. La technique de l'espace de tête implique quant à elle un équilibre entre la matrice et l'espace de tête, et un équilibre entre l'espace de tête et la phase stationnaire adsorbante. Quelle que soit la technique utilisée, l'extraction n'est jamais totale. Cependant, l'optimisation de différents paramètres permettra d'extraire une grande partie des analytes en un temps raisonnable. [1][4]

L'utilisation de l'espace de tête permet, en outre de protéger le revêtement de la fibre et par conséquent d'augmenter le nombre de réutilisations. Les composés volatils sont extraits les premiers puis viennent ensuite les composés semi-volatils. [4]

Il existe différents revêtements possibles pour la fibre. Les plus utilisés sont le poly (diméthylsiloxane) (PDMS), le polyacrylate (PA), le divinylbenzène (DVB) ou le Carbowax®. Le choix du revêtement dépend de la nature des analytes, de leur volatilité et de leur polarité. Il existe également un mélange PDMS-Carboxen® (CAR-PDMS) qui permet un criblage en fonction de la taille. Le Carboxen® est un carbone poreux qui possède une surface spécifique de 1200 m²/g. Du fait de sa porosité élevée, le revêtement CAR-PDMS permet de mieux retenir les petits composés et d'avoir une capacité plus élevée d'échantillons. [4]

2.1. Avantages et inconvénients

La SPME présente de nombreux avantages : réduction du temps de préparation des échantillons, minimisation des interférences causées par les composés non volatils, absence d'utilisation de solvants, investissement initial modéré par rapport à d'autres techniques (un lot de 3 fibres coûte environ 500 euros), modulation de la sélectivité par le choix du revêtement et possibilité d'évaluer des concentrations de l'ordre du ng/L (dépendra de la nature du détecteur en particulier ECD). Le gain important en sensibilité est principalement dû à l'introduction de la quasi-totalité des analytes dans l'injecteur du chromatographe. Les faiblesses de la technique SPME sont la reproductibilité, la fragilité des fibres et la limitation du nombre d'utilisations (50 à 100 injections). La qualité des fibres varie également d'un lot à l'autre. [1][4]

2.2. Choix de la fibre

La fibre PDMS-Carboxen® d'une épaisseur de 75 µm semble être la plus adaptée d'après un tableau comparatif des caractéristiques des revêtements. Elle est adaptée pour l'extraction de gaz et de traces de composés volatils bipolaires. [4] Une étude comparative de six revêtements de fibres pour l'extraction de THM montre un gain de sensibilité majeur avec l'utilisation d'une fibre PDMS-Carboxen® de 85 µm d'épaisseur. En comparaison avec la fibre PDMS, La sensibilité est multipliée par 40 pour le chloroforme et par 100 pour le bromodichlorométhane. L'étude a été réalisée avec un détecteur ECD. [1] Une autre étude menée avec un détecteur de masse a comparées trois fibres (CAR-PDMS, DVB-CAR-PDMS et PDMS-DVB) et met en évidence que la fibre PDMS-Carboxen® a la plus mauvaise répétabilité. La déviation standard varie entre 6 et 16% selon le THM considéré. Elle s'accompagne en outre d'un phénomène de «tailing» généralisé sur une colonne VF-5MS ; phénomène absent avec les autres fibres. [2]

Il n'est jamais fait référence au détecteur FID parmi les différentes techniques utilisées pour étudier les THM dans des eaux. Une revue de 2008 regroupant les différentes techniques et articles de recherche n'en fait pas mention. [3]

Néanmoins, l'utilisation d'un détecteur est citée dans quelques articles pour l'analyse de composés organiques autres que les THM à l'état de trace. [16] Le détecteur FID ne semble donc pas être le mieux adapté du fait de son manque de spécificité et de sa plus faible sensibilité par rapport au détecteur ECD et à la spectrométrie de masse en tandem. Malgré ces inconvénients, nous avons dans ce travail exploratoire privilégié la GC-FID, les autres techniques GC-ECD ou GC-MS² n'étant pas disponible au sein de l'unité.

La fibre PDMS-Carboxen® d'une épaisseur de 75 µm a été sélectionnée pour sa plus grande sensibilité et ce malgré un risque de répétabilité moindre.

2.3. Optimisation du rendement d'extraction

L'extraction en espace de tête qui se base sur deux équilibres n'est jamais totale. Cependant, l'optimisation de différents paramètres permet d'augmenter les quantités d'analytes extraites et/ou de réduire le temps d'extraction. Plusieurs études comparatives ont mis en évidence l'influence des conditions suivantes : volume d'espace de tête, volume d'échantillon, concentration initiale de l'échantillon, température d'extraction, agitation, ajout de sel, temps d'extraction et temps de désorption. [1][2][3]

La réduction de l'espace de tête, c'est-à-dire de la phase gazeuse, permet d'améliorer le rendement d'extraction. Le gain de sensibilité peut par exemple atteindre jusqu'à 10% pour le bromodichlorométhane. [1]

Le volume d'échantillon peut également avoir une légère influence sur la quantité d'analytes qui est adsorbée. Une légère augmentation du rendement d'extraction est en effet observée lorsque le volume d'échantillon augmente tout en conservant une concentration constante. L'effet est très perceptible s'il y a une utilisation de volume très faible (en dessous de 2 mL). Un équilibre finit par s'établir entre le volume d'échantillon et la quantité adsorbée selon la nature de l'analyte. [17]

La quantité adsorbée dépend également de la concentration initiale. Cependant le profil d'extraction en fonction du temps et le temps d'équilibre sont identiques quelle que soit la concentration initiale.

L'augmentation de la température d'extraction favorise la pression vapeur des analytes volatils et par conséquent leur transfert dans l'espace de tête. Cependant, elle a un effet négatif sur la partition entre la surface adsorbante de la fibre et l'espace de tête. Les analytes les plus volatils ont une tendance à rester dans l'espace de tête. [4] Le meilleur compromis pour les 4 THM est une température de l'ordre de 35°C. La hausse de la température de 20 à 35°C peut apporter jusqu'à 15% de sensibilité supplémentaire pour les THM les moins volatils mais n'a aucune influence sur le chloroforme. [1]

L'agitation magnétique de la phase liquide accélère l'obtention de l'équilibre en renouvelant l'interface entre la matrice liquide et l'espace de tête. Une agitation plus élevée permet un transfert de masse plus important avec un temps d'équilibre plus réduit. L'addition de sels dans la phase aqueuse provoque une augmentation significative de la force ionique de la solution. Cette augmentation de force ionique favorise la diffusion des analytes dans l'espace de tête et réduit le temps d'extraction pour chaque analyte. L'effet est plus marqué pour les composés les moins volatils. [1] La quantité recommandée de sels va de 25 % masse/volume jusqu'à la saturation. Une étude comparative entre un échantillon statique sans sel et un échantillon agité avec du sel montre une augmentation significative des rendements d'adsorptions, d'un facteur 2,5 à 3,7 selon la nature des THM, pour un même temps d'extraction. [1]

Notons également que le temps d'extraction est un facteur critique. Lorsque la fibre est exposée dans l'espace de tête, les analytes s'adsorbent sur le revêtement de la fibre jusqu'à atteindre un

équilibre. Un temps d'exposition au-delà de l'équilibre ne modifie pas la quantité totale adsorbée sur la fibre. Le temps d'extraction est fixé lorsqu'environ 80% des analytes sont extraites afin d'avoir un temps d'extraction raisonnable. Il se situe à la fin de la phase de pré-équilibre où la quantité adsorbée ne varie plus beaucoup en fonction du temps. Il varie généralement entre 20 et 35 minutes pour la fibre PDMS-Carboxen® selon les paramètres choisis. [1][2] Néanmoins, une étude de cinétique d'extraction a été réalisée lorsque la plupart de nos paramètres furent optimisés.

Enfin, le temps de désorption dans un injecteur à 250°C dure généralement moins d'une minute pour chaque THM. [1]

3. Paramètres de la GC-FID

Des essais visant à optimiser les meilleurs paramètres de séparation (température de l'injecteur, rampe de températures, etc.) ont tout d'abord été réalisés en injection liquide à partir de solutions de méthanol dopées par un mélange de THM et de fluorobenzène (étalon interne).

Le laboratoire est équipé d'une colonne HP-5MS montée sur un système GC-FID (Agilent 7820A). Cette colonne possède une épaisseur de film assez faible (0.25 µm) et nous avons eu des craintes quant à sa capacité à séparer le chloroforme du méthanol. Le chloroforme et le méthanol possèdent en effet des températures d'ébullitions de respectivement 61,2°C et 64,7°C. Le méthanol est le solvant utilisé dans les références contenant le mélange des THM ainsi que dans celui du fluorobenzène. La technique SPME n'empêchera pas son extraction du fait de sa volatilité.

Une étude comparative des deux colonnes (HP-5ms et DB-624) a été menée afin de déterminer leurs capacités de séparation et la linéarité obtenue pour une même gamme de concentration en THM. Elle a été réalisée sur deux instruments GC afin d'éviter des changements de colonnes fréquents. Une GC-FID (Agilent 7820A) équipée d'une colonne HP-5MS appartenant à l'ECPM (salle de travaux pratiques) et une seconde (Agilent 7820A) équipée d'une colonne DB-624 appartenant au laboratoire ont été utilisées

Tableau 1 : Caractéristiques des colonnes HP-5MS et DB-624

Caractéristiques	HP-5MS	DB-624
Longueur (m)	30	30
Diamètre (mm)	0,320	0,250
Epaisseur du film (µm)	0,25	1,40
Composition	5 % phenyl 95 % diméthylsiloxane	6 % cyanopropyl 94 % diméthylpolysiloxane
Température maximal	310 °C	260 °C

4. Prélèvement et conservation des échantillons de terrain

Les flacons de prélèvements doivent être remplis jusqu'à débordement et soigneusement bouchés tout en évitant de laisser un espace de tête. Les turbulences doivent être limitées car elles peuvent occasionner une perte des substances d'intérêt par dégazage. Si une présence de chlore libre est suspectée, l'ajout de thiosulfate de sodium pentahydraté (80 mg/L) permettra de mettre fin à la

formation de THM. Les échantillons peuvent être conservés au maximum un mois si le flacon est hermétiquement fermé et conservé à une température de 4 °C. Enfin leur exposition à la lumière doit être réduite au maximum. [18]

5. Méthode expérimentale

La fibre SPME a été conditionnée systématiquement en début de journée pendant 1h à 300°C. L'absence de contaminants particuliers a été systématiquement vérifiée en réalisant la mesure d'un blanc. Lorsque la fibre n'est pas utilisée en journée, elle est maintenue dans l'injecteur de la GC-FID afin d'éviter toute contamination. Le dispositif SPME est rangé en fin de journée dans sa boîte.

La méthode expérimentale est basée sur plusieurs études combinant extraction par SPME et analyse en GC-ECD ou GC-MS mode SIM. Il n'a pas été possible de trouver un protocole d'utilisation d'un système GC-FID et c'est la raison pour laquelle nous avons établi toute une série de validation par cette méthode. En effet, seule une GC-FID était disponible pour mener à bien nos analyses. Comme précisé précédemment, une détection par FID avec l'utilisation de la technique SPME doit nous permettre d'atteindre des valeurs proches de la NQE. Tout impact dans les eaux fluviales du CNPE de Fessenheim se traduirait par des valeurs proches voire supérieures aux limites de 2,5 µg/L comme cela avait été mesurées pour le CNPE de Dampierre par exemple.

Notre approche analytique se basera sur l'optimisation des conditions d'extraction par SPME et de séparation en GC-FID. La méthode quantitative est mise au point en réalisant une gamme de concentrations sur des solutions d'eau (HiperSolv) dopées avec un mélange des THM et l'ajout d'un étalon interne (fluorobenzène). Elle passe par la détermination de la répétabilité, la reproductibilité, la limite de détection, la limite de quantification et des taux de recouvrement dans une eau provenant du Rhin.

IV. Résultats

1. Optimisation des paramètres en GC-FID

1.1. Paramètres et choix de colonne

Les paramètres optimisés pour les injections liquides sur les colonnes HP-5MS et DB-624 sont résumés en [Annexe3/7]

La séparation du chloroforme et du méthanol est incomplète sur la colonne HP-5MS. L'effet de co-élution rend difficile la lecture du pic du chloroforme pour de faibles concentrations (en dessous de 4 µg/mL). A l'inverse, la séparation des différents composés est optimale avec la colonne DB-624. [Annexe 8]

Le facteur de corrélation R^2 est supérieur à 0,995 pour chaque colonne avec une gamme haute allant de 50 à 800 µg/mL (n=5). La HP-5MS montre ses limites avec une gamme basse allant de 0,5 à 10 µg/mL (n=5). Les aires des points bas de la gamme basse ne sont plus mesurables. A l'inverse, tous les points sont mesurables avec la DB-624 et le facteur de corrélation R^2 est supérieur à 0,975.

La colonne DB-624 se révèle donc comme attendue bien plus adaptée que la HP-5MS pour la séparation des THM. Une meilleure sensibilité est également constatée.

1.2. Adaptation des paramètres au système SPME

Les paramètres optimisés en injection liquide ont été conservés à l'exception de l'injection qui passe en mode splitless et de la température dans l'injecteur qui passe de 250 à 300°C permettant une désorption plus rapide et un affinement des pics.

Un liner splitless de 4 mm a été installé pour éviter tout risque de destruction de la fibre mais s'est avérée inadaptée. La ligne de base est chaotique et les pics sont soit écrasés soit co-élus avec d'autres pics qui ne correspondent pas aux THM. [Annexe 15] Le remplacement de celui-ci par un liner splitless de 0,75 mm de diamètre apporte un gain significatif en résolution. La SPME s'est révélée très sensible et les pics des THM sont observables à des valeurs proches de quelques µg/L. Cependant de nombreuses impuretés sont également observées. Elles ne sont pas gênantes lorsque des hautes concentrations sont mesurées. [Annexe 14]

Les pics parasites proviennent de différentes sources : la fibre SPME par elle-même, l'eau (HiperSolv CHROMANORM®), le méthanol des dilutions (Méthanol ≥ 99,9 %, HiPerSolv CHROMANORM®), le méthanol des mélanges de THM et le méthanol contenant le fluorobenzène. [Annexe 13] Le méthanol apporte des pics parasites gênants dans la zone d'intérêt et il contient des traces de chloroforme alors qu'il est de grade HPLC. Il faut tout faire pour limiter les dilutions dans le méthanol.

Des essais avec d'autres programmes de rampes de températures ont été menés mais ils n'ont pas permis d'améliorer la séparation des pics de THM des pics parasites. L'ensemble subissait uniquement un décalage en temps de rétention.

L'utilisation d'une eau ultra-pur produite par un système Millipore® n'apporte pas de réelles améliorations. Un pic parasite est éliminé (visiblement celui du CO₂) et d'autres réduits lorsque l'eau utilisé est bouillie et dégazé avec de l'argon.

L'étalon interne qu'il soit fixé à 4 ou 20 µg/L montre toujours un phénomène de tailing important. Une concentration trop élevée en étalon interne provoque en outre une co-élution avec le pic du bromodichlorométhane.

Malgré tous nos efforts d'optimisation, le bromodichlorométhane co-élue partiellement avec plusieurs pics de composés inconnus. Le dibromochlorométhane est au sommet d'un large pic et co-élue avec un pic parasite. Le large pic en question est systématiquement présent lors de la mesure d'un blanc avec la fibre seule et ce malgré l'utilisation de plusieurs fibres SPME. Ce large pic semble être caractéristique de la fibre et il ne faiblit pas au fur et à mesure des conditionnements. Le bromoforme co-élue également à faible concentration avec un pic parasite. Le pic du chloroforme présente une forme étalée et montre une tendance à se dédoubler. Enfin, l'étalon interne présente un phénomène de tailing important auquel peut s'ajouter un dédoublement de pic.

2. Optimisation des paramètres en SPME

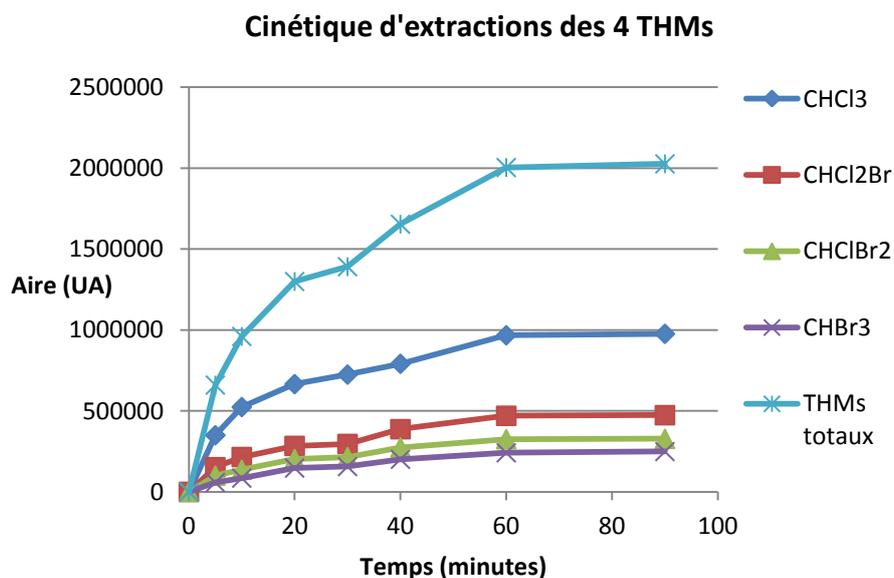
2.1. Paramètres d'extraction

Le volume d'échantillon a été fixé à 5 mL avec l'utilisation de vial de 15 mL. L'agitation magnétique a été fixée à 1250 tours par minute. L'ajout de $2,08 \pm 0,05$ g de NaCl permet d'être largement au-dessus de la limite de saturation qui est de $\pm 1,8$ g dans de l'eau à 25°C. Il n'a pas été possible pour des raisons pratiques d'avoir un milieu thermostaté à 35°C. La température dans le laboratoire a été en moyenne de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (laboratoire climatisé). Le temps d'extraction a été temporairement fixé à 30 minutes [1][2]

2.2. Cinétique d'extraction

L'étude de la cinétique d'extraction nous a permis de d'évaluer le temps d'extraction le plus approprié (± 80 % d'extraction) qui prend en compte non seulement les paramètres d'extractions choisis mais également le matériel utilisé. Elle a été réalisée avec des dopages d'eau (HiperSolv) par le mélange de THM pour une concentration finale de 100 $\mu\text{g/L}$. Elle a été réalisée sur deux jours à une température ambiante de 25°C.

Figure 2 : évolution de l'aire des pics des THM en fonction du temps d'extraction



L'équilibre est atteint à partir de 60 minutes. Le point à 30 minutes bien qu'en apparence légèrement sous-estimé correspond à un rendement d'extraction compris entre 65 et 70 %. Un temps d'extraction de 40 minutes nous a paru être le meilleur compromis pour extraire un maximum d'analytes tout en maintenant un temps d'extraction raisonnable.

3. Validation de la méthode d'analyse

3.1. Droites d'étalonnage des THM

Les droites d'étalonnage obtenues en GC-FID pour les THM sont en annexes. [Annexe 17] le rapport des aires correspond au rapport de l'aire du THM sur l'aire de l'étalon interne.

Les coefficients de régression sont supérieurs à 0,94 ce qui indique une linéarité relative.

3.2. Étude de la répétabilité et reproductibilité des mesures

L'étude est réalisée avec une répétition de deux concentrations (10 et 100 µg/L) trois fois chacune par jour et ce sur 3 jours dans l'eau (HiperSolv). En raison de contraintes techniques (possibilité de réaliser 6 mesures par jours) et de temps, la répétabilité et la reproductibilité ont été traitées ensemble.

Répétabilité :

Tableau 2 : Déviations standards relatives pour 9 essais à 10 et 100 µg/L

Concentration (µg/L)	date	RSD (%)				
		CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃	Σ 4 THM
100 (n=3)	05/06	8,7	7,2	8,7	7,1	7,9
100 (n=3)	06/06	21,0	12,6	11,2	10,9	13,9
100 (n=3)	07/06	10,5	3,5	2,5	3,5	5,0
10 (n=3)	05/06	3,0	1,8	8,8	9,5	5,8
10 (n=3)	06/06	8,2	3,2	2,0	5,9	4,8
10 (n=3)	07/06	16,8	14,4	15,4	20,0	16,6

Les résultats doivent être considérés avec prudence étant donné que la répétabilité n'est faite que sur une série de 3 dopages dans la même journée. Il aurait été préférable de réaliser une dizaine de mesures dans une même journée mais ce n'était pas faisable. L'incertitude de répétabilité est globalement inférieure pour les dopages à 100 µg/L par rapport à ceux à 10 µg/L avec seulement une différence de quelques pourcents. L'incertitude varie entre 5,0 et 17,0 %.

Reproductibilité (répétabilité intermédiaire) :

Tableau 3 : Déviations standards sur 3 jours pour 9 essais à 10 et 100 µg/L

Concentration (µg/L)	RSD (%)				
	CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃	Σ 4 THM
100 (n=9)	14,0	9,9	11,1	10,7	11,4
10 (n=9)	16,3	18,1	14,2	14,2	15,7

L'incertitude de reproductibilité est inférieure pour les dopages à 100 µg/L par rapport à ceux à 10 µg/L. La différence est plus marquée par rapport à ce qui a été vu pour la répétabilité. Les déviations

standards sont comprises entre 9,9 % et 18,1 % en accord avec le type de fibre utilisée (fibre PDMS-Carboxen[®], entre 6 et 16 % selon le THM considéré).

3.3. Calcul des limites de détection et quantifications des THM

Les limites de quantifications et de détections ont été estimées d'après la méthode du h_{max} qui se base sur un examen du chromatogramme. [Annexe12/16]

Tableau 4: limites de détections et de quantifications estimées

THM	Concentration (µg/L)			
	CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃
LD (3 x S/B)	0,9	2,0	1,6	5,7
LQ (10 x S/B)	2,9	6,5	5,4	18,8
LQ pratique (20 x S/B)	5,8	12,9	10,7	37,5

Ces valeurs doivent être considérées avec prudence. Le problème majeur pour la quantification des pics n'étant pas l'amplitude du bruit de fond mais plutôt les problèmes d'intégrations des pics sur un chromatogramme riche en pics parasites et avec une ligne de base instable. C'est pourquoi les essais de validation de la limite de quantification sont réalisés sur des dopages de 10 µg/L qui correspondent à une concentration supérieur à la LQ pratique du chloroforme. Ce choix prend en compte également les limites de quantifications différentes entre les THM. Il n'était pas possible de vérifier chaque limite de quantification individuellement car cela aurait nécessité une trentaine d'essais supplémentaire.

3.4. Étude des effets matrice

L'étude a été réalisée à partir d'une eau prélevée fraîchement dans le Rhin à proximité de Strasbourg. Il s'est écoulé tout au plus 48h entre le prélèvement de l'eau et la fin des mesures. Aucun THM n'a été détecté dans les blancs matrices (n=3), ce qui indique que les taux en THM sont inférieurs à nos limites de détection. Il y a eu trois dopages (10, 40 et 100 µg/L) répétés trois fois pour chacune des concentrations.

La moyenne du recouvrement de l'étalon interne est de 75% dans les dopages effectués dans une eau du Rhin. Les résultats du recouvrement ont dû être évalués en aires. Les recouvrements correspondent au rapport de l'aire du THM mesurée sur l'aire théorique calculée d'après les courbes d'étalonnages. [Annexe 18] Afin de comparer la matrice Rhin avec la matrice eau (HiperSolv), Le même type de recouvrement est calculé d'après les aires pour les dopages réalisés dans l'eau (HiperSolv).

Tableau 5 : Pourcentage des recouvrements des différents dopages dans l'eau (HiperSolv) et l'eau du Rhin

Échantillon	Concentration ajouté (µg/L)	Moyenne des recouvrements ± RSD (%)			
		CHCl ₃	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃
Eau du Rhin (Site 1)	100 (n=3)	79,0 ± 6,0	109,0 ± 7,8	95,6 ± 7,5	123,8 ± 6,9
	40 (n=3)	63,2 ± 18,1	72,7 ± 10,7	61,0 ± 11,0	73,8 ± 10,8
	10 (n=3)	45,3 ± 31,0	52,2 ± 37,7	32,4 ± 31,5	48,0 ± 13,9

Eau (HiperSolv)	100 (n=9)	84,6 ± 15,6	118,1 ± 12,9	118,0 ± 11,9	127,2 ± 12,0
	10 (n=9)	80,8 ± 27,4	101,6 ± 26,5	113,6 ± 20,8	79,1 ± 23,0

La moyenne des recouvrements est à peu près équivalente entre la matrice Rhin et la matrice eau (HiperSolv) pour une concentration de 100 µg/L. Les recouvrements des THM dans la matrice Rhin diminue pour les plus faibles concentrations.

4. Mesure des concentrations en THM dans les échantillons

Les eaux des différents sites de prélèvements sélectionnées (3.3) ont été analysées deux fois. Quel que soit l'échantillon utilisé, aucun THM n'a été mis en évidence ce qui indique que les taux de ces prélèvements sont en tout cas inférieurs à 10 µg/L et présumés inférieur aux limites de détection (estimation) de notre technique analytique. [10/11]

Tableau 6 : Concentrations des THM dans les eaux prélevées sur site

Composés	LD* (µg/L)	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
Chloroforme	0,9	ND								
Bromodichlorométhane	2,0	ND								
Dibromochlorométhane	1,6	ND								
Bromoforme	5,7	ND								

*Il s'agit de la limite de détection estimée d'après le rapport signal sur bruit / ND = Non Détecté

V. Discussions

1. Optimisation des paramètres en GC-FID

L'étalement et le dédoublement du pic du chloroforme et de l'étalon interne, malgré nos efforts d'optimisation, a posé des problèmes pour la mesure des aires. Le phénomène important de tailing avec l'étalon interne a posé des problèmes de répétabilité des mesures. La proximité des pics des autres THM avec des pics d'impuretés a contribué à accroître les incertitudes sur la mesure de leur aire. Comme évoqué précédemment, ces phénomènes à l'exception du phénomène de tailing sur le pic de l'étalon interne ne posent pas de problème pour des concentrations nettement au dessus de 100 µg/L.

L'encombrement du chromatographe par des pics parasites semble donc résulter d'une combinaison entre la forte sensibilité de la technique SPME et le manque de spécificité du détecteur FID. Il est évident que l'utilisation d'une détection ECD ou MS en tandem aurait permis de s'affranchir de ce type d'inconvénients mais celles-ci ne sont pour l'heure indisponible au sein de mon laboratoire d'accueil. Il est également important de souligner que la GC-FID utilisée n'était pas au début de ce projet adaptée pour une technique SPME que nous avons dû intégralement mettre en place (choix et achats des fibres, de la colonne, des accessoires tels que les liners, optimisation de la méthode). Il est aussi utile de mentionner que nous avons eu un défaut de matériel (défaut sur un septum d'injection SPME Microseal P/N 21-01) qui nous a été dommageable en matériel (destructions de 2 fibres SPME)

et en temps (discussions avec le fabricant, délai de commande pour recevoir un nouveau septum et de nouvelles fibres).

2. Optimisation des paramètres en SPME

L'optimisation des paramètres ayant le plus d'influence sur les rendements d'extractions (respectivement l'agitation, la saturation en sels et le temps d'extraction), nous ont permis d'accroître significativement les rendements d'extraction.

Des essais avec un volume d'échantillon plus élevé (50mL) et un espace de tête proportionnellement plus faible (± 10 mL) ont permis de mettre en évidence un gain en sensibilité (jusqu'à 50%). L'expérience en question a été réalisée avec un ballon de 50 mL modifié pour la circonstance. Cependant, le laboratoire ne possède pas des vials de 50 mL et ceux-ci ne sont pas compatible avec le système d'extraction (SPME sampling stand) acquis pour ce travail.

Un milieu thermostaté à 35°C aurait pu permettre un léger gain de sensibilité pour les THM les moins volatils. Cependant, pour des raisons pratiques, les essais ont été menés à température ambiante ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, laboratoire climatisé).

3. Validation de la méthode d'analyse

L'étude de la linéarité montre un facteur de corrélation R^2 au dessus de 0,94 ; ce qui demeure acceptable. Cependant, l'ordonnée à l'origine de ces droites d'étalonnage est souvent éloigné du zéro. Cette surestimation peut être due à la co-élution avec des pics parasites. La valeur importante de l'ordonnée à l'origine pose problème pour calculer les faibles concentrations. Il aurait été préférable de réaliser plusieurs gammes aux mêmes concentrations pour avoir un meilleur recul. L'étalon interne a du être dilué dans le méthanol présentant des traces de chloroforme, ce qui a contribué à accroître la surestimation de celui-ci.

Une précédente gamme, allant de 10 à 100 (n=6) réalisée avant l'optimisation des paramètres d'extraction et avec une fibre en milieu/fin de vie, avait donné des facteurs de corrélation R^2 semblable mais avec une sous-estimation des concentrations, ce qui peut s'expliquer par l'usure de la fibre. Typiquement, la durée de vie d'une fibre SPME va de 50 à 100 essais, les points de cette gamme étaient compris entre les 40^{ième} et 50^{ième} essais. [annexe 19]

Notons également que le facteur de corrélation est légèrement amélioré en prenant en compte l'aire et pas le rapport d'aire. En effet, il y a de forts doutes quant à la bonne mesure de l'aire de l'étalon interne du fait d'un important phénomène de tailing. Cependant, la répétabilité et la reproductibilité sont nettement améliorées en se basant sur le rapport d'aire plutôt que sur l'aire seul. Le pourcentage de déviation standard est compris entre 10 et 18 % en se basant sur le rapport d'aire alors qu'il peut atteindre jusqu'à 26 % en se basant uniquement sur l'aire de l'analyte.

Les problèmes d'intégration de l'étalon interne provoquent donc une augmentation significative des incertitudes sur les mesures. Dans l'avenir, Il sera préférable d'utiliser plusieurs étalons internes.

L'incertitude sur les concentrations allant de 10 à 15% contribue également à accroître l'incertitude globale. Il a fallu utiliser les standards pures avec des ajouts de volumes de quelques μL afin d'éviter

toutes dilutions dans le méthanol. Rappelons que malgré l'utilisation d'un méthanol de qualité chromatographique, celui-ci contient des teneurs non négligeables à notre échelle en chloroforme ainsi que plusieurs constituants volatils parasites. L'utilisation de gros volumes de méthanol provoque une saturation du chromatogramme en pics parasites. [Annexe 13] Les incertitudes sur les concentrations sont dues aux incertitudes liées aux volumes prélevés et aux dilutions auxquels se sont ajoutés l'incertitude sur la concentration des standards qui est de $\pm 6\%$ (valeurs données par le fournisseur).

L'instabilité de la ligne de base, les phénomènes de tailing sur certains pics et les co-élutions avec des pics parasites ont rendu l'intégration des pics moins reproductible et ont donc contribué à accroître l'incertitude globale.

La limite de détection présentée dans cette méthode est basée sur une estimation à partir du signal sur bruit. Cette estimation semble être la limite de détection probable de cette méthode étant donné la propreté des chromatogrammes obtenue à partir des eaux de terrain. Les pics de THM pourraient être plus sensiblement détectés sur les échantillons de rivières car il serait bien isolé et la ligne de base serait plus stable. Les grandes incertitudes sur les mesures viennent de la surcharge des chromatogrammes obtenues à partir des dopages (ligne de base chaotique, co-élution avec des pics parasites, ...). La limite de quantification des 4 THM à $10 \mu\text{g/L}$ n'est pas validée en se basant sur un protocole de validation de méthode (ISO/CEI 17025). [22] Tout ce qui peut être dit, c'est que la mesure d'une valeur à $10 \mu\text{g/L}$ s'accompagne d'une incertitude allant de 14 à 18%.

Au final, une méthode semi-quantitative partiellement validée est obtenue. Elle permet de mesurer des concentrations entre 10 et $100 \mu\text{g/L}$ avec une incertitude comprise entre 10 et 20%. Bien que nous aurions aimé accéder à une méthode plus sensible (possible avec une détection ECD ou MS en mode SIM), elle nous permet tout de même de détecter des concentrations de THM à des valeurs de quelques $\mu\text{g/L}$ proche des seuils (NQE de $2,5 \mu\text{g/L}$).

4. Étude des effets matrices

La moyenne des recouvrements est à peu près équivalente entre la matrice Rhin et la matrice eau (HiperSolv) pour une concentration de $100 \mu\text{g/L}$. Les recouvrements dans la matrice Rhin diminuent lorsque les concentrations diminuent. Les recouvrements pour des concentrations de $10 \mu\text{g/L}$ varient entre 32,4 et 52,2 % mais avec une incertitude très importante (jusqu'à 37,7%). En se basant sur la valeur moyenne, les limites de détection des THM pourraient doubler ou tripler.

Il faut noter que l'eau prélevé dans le Rhin avait un aspect fort turbide à la suite d'une période orageuse. A l'inverse, les eaux prélevées à proximité de Fessenheim avaient un aspect plus clair. Cela a pu accentuer les effets de matrice.

5. Mesure des concentrations en THM dans les échantillons

Les échantillons de terrains ont été analysés dans les mêmes conditions que celles utilisées pour les dopages en THM. Aucun des quatre THM n'a pu être détecté dans les différentes eaux prélevées. En effet, il n'y a aucun signal qui se distingue significativement de la ligne de base au niveau de leur temps de rétention. Les concentrations en THM se sont avérées être nettement en dessous des limites de détection (estimées) de notre méthode. En prenant en compte les effets de matrice, la limite de détection du chloroforme passerait à 1,8 µg/L. Il semble très probable que les taux mesurés soient en dessous de la NQE de 2,5 µg/L.

Il semble donc que les rejets de chlore des différentes industries et les traitements biocides réalisés au niveau du CNPE de Fessenheim n'ont pas entraîné une augmentation importante des taux de THM dans les eaux fluviales. Les taux étant visiblement en dessous de la NQE.

Il faut noter que ces prélèvements ont été effectués à la fin du printemps qui est généralement une période où la production de THM est la plus importante. Mais également que l'un des deux réacteurs du CNPE de Fessenheim est à l'arrêt étant donné la fermeture programmée du CNPE fin 2018.

Les quatre prélèvements (S2, S3, S4 et S5) ont été réalisés en accord avec les conditions de prélèvements, de stockage et de délais d'analyse recommandées. Ceux-ci ont été réalisés par un stagiaire travaillant sur un autre sujet relatif au projet Juxta Rhenum.

Les quatre prélèvements à proximité du CNPE de Fessenheim (S6, S7, S8 et S9) ont été effectués en mars par un autre stagiaire pour d'autres types d'analyse. Lorsqu'ils ont été récupérés, plusieurs prélèvements avaient eu lieu et ils présentaient un espace de tête conséquent. Ils avaient tout de même été conservés à 4°C. Ils ont été analysés à la mi-juin. Ces 4 échantillons n'ont pas été conservés ni analysés dans un des délais recommandés et ont pu être potentiellement altérés.

Ces données préliminaires d'un projet qui vient de démarrer ne sont pas si étonnantes. Les sources de rejets de chlore, de dérivés chlorés et de THM ont diminué ces dernières années. Le débit élevé du Rhin (2000 m³/s) peut également provoquer une forte dilution des THM. S'il y a eu une forte pollution en THM dans les eaux du GCA, c'est dans les sédiments qu'il faudra sans doute les évaluer.

Conclusion et perspectives

Au cours de ce projet, deux options se sont offertes à nous : soit réaliser une méthode de mesure moins précise entre 10 et 100 µg/L afin de pouvoir se rapprocher le plus possible des seuils de qualité environnementale, soit réaliser une méthode de mesure plus précise mais qui aurait correspondu à des valeurs supérieures à 100 µg/L. En tenant compte du fait que des valeurs supérieures à 100 µg/L ne correspondent pas aux concentrations que l'on est en droit de s'attendre à trouver dans un cours d'eau, c'est la première option qui a été naturellement privilégiée.

La méthode qui a été intégralement mise en place (choix des colonnes, fibres et accessoires, installations et validations) nous permet désormais une approche semi-quantitative qui permet de

mesurer des concentrations au dessus de 10 µg/L avec néanmoins des incertitudes allant de 10 à 20 % sur celles-ci. Notre méthode manque en effet de précision et elle ne nous permettra pas de mesurer précisément les concentrations en THM en dessous de 100 µg/L. Cependant, il semble possible de détecter des taux de quelques µg/L. Dans le cas de mise en évidence de teneurs de THM dans des eaux fluviales ou dans des sédiments, il faudra utiliser d'autres techniques de détection telles que la GC-ECD ou la GC-MS en mode SIM.

La méthodologie mise en place (prélèvements, expérimentations et analyses) permettra sans doute de mettre en évidence une forte pollution mais elle ne permet pas pour l'heure de quantifier les faibles taux.

La technique SPME s'est donc révélée très efficace pour accroître la sensibilité malgré quelques problèmes techniques. La fibre PDMS-Carboxen® a montré certaines limites à cause d'une faible répétabilité

Bien évidemment et comme attendu, le détecteur FID par son manque de sélectivité et sa plus faible sensibilité comparée à un détecteur ECD a posé des problèmes lors de la mise en place de cette méthode au sein de mon laboratoire d'accueil.

L'utilisation combinée de la SPME et d'un détecteur ECD ou d'un spectromètre de masse en mode SIM permettra sans doute d'atteindre des limites de quantification en dessous du dixième jusqu'au millième de µg/L. Cependant, ce n'est clairement pas l'objectif de ce projet. L'objectif premier était en effet d'établir si le CNPE de Fessenheim pouvait, par son historique et son mode de fonctionnement, provoquer une élévation significative du taux de THM dans le GCA. Ce n'est visiblement pas le cas pour des prélèvements d'eaux fluviales. Ce qui peut être conclu dans le cadre de ce projet, c'est qu'au moment des prélèvements, aucun des 4 THM n'a été détecté dans les eaux du GCA. Cela semble indiquer l'absence de pollution de l'eau par des THM et ce malgré la proximité du CNPE de Fessenheim et d'un Rhin fortement anthropisé en amont (Bâle, station d'épuration de Mulhouse, etc.). Les taux mesurés sont visiblement en dessous de la NQE. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces faibles taux : la périodicité des traitements biocides, le débit élevé de l'eau dans le GCA et les phénomènes important de dilution.

En perspective, il serait intéressant de déterminer s'il y a eu une accumulation de THM dans des dépôts sédimentaires. Le chloroforme en particulier peut s'accumuler dans les sédiments et il présente une forte mobilité dans les sols. Il n'y a aucune donnée sur les taux de THM dans des matrices sédimentaires au niveau du GCA ou à proximité sur le Rhin en aval. L'absence d'études peut s'expliquer par l'absence de normes pour les taux de THM dans les sédiments.

Il pourrait aussi être possible de les détecter dans l'air. Cependant, les traitements biocides étant ponctuels, il y a peu de chance qu'une pollution puisse être détectée dans l'air. Le plus probable est donc une accumulation de THM dans des dépôts sédimentaires sur plusieurs années s'ils n'ont pas été biodégradés, ce qui en ferait des indicateurs intéressants pour évaluer l'impact du CNPE de Fessenheim sur son écosystème.

VI. Bibliographie

- [1] Cho DH, Kong SH, Oh SG. Analysis of trihalomethanes in drinking water using headspace-SPME technique with gas chromatography. *Water Res* 2003;37 : 402-408.
- [2] San Juan PM, Carrillo JD, Tena MT. Fibre selection based on an overall analytical feature comparison for the solid-phase microextraction of trihalomethanes from drinking water. *J Chromatogr A* 2007;1139 : 27-35.
- [3] Pavon JLP, Martin SH, Pinto CG, Cordero BM. Determination of trihalomethanes in water samples : A review. *Analytica Chimica Acta* 2008;629 : 6-23.
- [4] Burgot G, Pellerin F. Microextraction en phase solide (SPME). *Techniques de l'Ingénieur* 2003;P1430 V1.
- [5] Mouly D, Joulin E, Rosin C, Beaudeau P, Zeghnoun A, Olsewski-Ortar A, Munoz JF. Les sous-produits de chloration dans l'eau destinée à la consommation humaine en France. Institut de veille sanitaire 2009.
- [6] Hartmann P, Bordet F, Chevalier C, Colin JL, Khalanski M. Centrales Nucléaires et Environnement – Prélèvements d'eau et rejets. EDF 2014 ; p 21-23, 88-90, 110-111, 135, 167.
- [7] Rapport sur la sûreté nucléaire et la radioprotection de l'installation nucléaire de Fessenheim. EDF 2014 ; p 5, 32-33.
- [8] Belles-Isles, Chaussé K. Trihalométhanes. Institut national de santé publique Québec 2002.
- [9] Bisson M, Diderich R, Dujardin R, Lacroix G, Lamy MH, Lefevre JP, Magaud H, Pichard A, Pepin G, Viller C. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : chloroforme. INERIS 2011 ; p 7.
- [10] Le bromate dans l'eau potable. Santé Canada 2016 ; p 17.
- [11] Gouzy A. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : chloroforme. INERIS 2014 ; p 7.
- [12] Les aménagements hydroélectriques du Rhin Franco-Allemand. EDF
- [13] Mines de Potasse D'alsace (2008) Les rejets au Rhin [en ligne]. Disponible sur : «<http://www.mdpa.fr/les-rejets-au-rhin.html> » [consulté le 18 juin 2018]
- [14] Mulhouse.fr (2018) Gestions des eaux usées [en ligne]. Disponible sur : «<https://www.mulhouse.fr/fr/gestion-des-eaux-usees/> » [consulté le 18 juin]
- [15] Evolution des prélèvements d'eaux pour la production d'énergie. Agence de l'eau Rhin-Meuse 2000 ; p 74-75. Disponible sur : «<http://www.eau2015-rhin-meuse.fr/tlch/sdage/e.pdf> » [consulté le 18 juin]
- [16] Béné A, Fornage A, Luisier JL, Pichler P, Villettaz JC. A new method for the rapid determination of volatile substances : the SPME-direct method. *Sensors and Actuators B* 2001;72 : 184-187.
- [17] Doong RA, Chang SM. Determination of Distribution Coefficients of Priority Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Solid-Phase Microextraction. *Anal. Chem.* 2000;72 : 3647-3652.
- [18] Fiche substance validée : chloroforme. Laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques 2009. Disponible sur : «<https://www.aquaref.fr/chloroforme>» [consulté le 18 juin]
- [19] Blatchley ER, Margetas D, Duggirala R. Copper catalysis in chloroform formation during water chlorination. *Water Research* 2003;27 : 4385-4394.
- [20] Monographs 101-F07. IARC 2013 ; p37. Disponible sur : «<https://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol101/mono101-F07.pdf>» [consulté de 24 juin]
- [21] Afssa-Saisine n°2004-SA-0070. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. 2010 ; p25. Disponible sur : «<https://www.anses.fr/fr/system/files/RCCP2004sa0070.pdf>» [Consulté le 24 juin]
- [22] Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec 2015. Disponible sur : «http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/pala/DR12VMC_protocole_val_chimie.pdf » [Consulté le 24 juin]

Illustrations :

- [23] photographie : Centrale nucléaire de Fessenheim. EDF. Disponible sur : «<https://www.edf.fr/groupe-edf/producteur-industriel/carte-des-implantations/centrale-nucleaire-de-fessenheim/presentation>» [Consulté le 24 juin]
- [24] Les aménagements hydroélectriques du Rhin Franco-Allemand. EDF ; p 12
- [25] Rapport sur la sûreté nucléaire et la radioprotection de l'installation nucléaire de Fessenheim. EDF 2014 ; p 29.

Annexes

Liste des annexes

Annexe 1 : principales propriétés physico-chimiques des trihalométhanes.

Annexe 2 : précautions et propriétés toxiques des aux trihalométhanes

Annexe 3 : paramètres optimisés en injections liquides sur les colonnes HP-5MS et DB-624

Annexe 4 : composition des solutions étalons

Annexe 5 : Solutions utilisées pour la préparation des dopages

Annexe 6 : Matériels utilisés en SPME

Annexe 7 : Paramètres complémentaires de la GC-FID

Annexe 8: Comparaison des spectres obtenus sur la DB-624 et la HP-5MS en injection liquide

Annexe 9 : Chromatogrammes du point haut (100 µg/L) et du point bas (10 µg/L) de la gamme d'étalonnage

Annexe 10 : Coordonnées des sites de prélèvements

Annexe 11 : Chromatogrammes des échantillons de terrain.

Annexe 12 : méthode d'estimation de la limite de détection et de quantification

Annexe 13 : Identifications des pics parasites

Annexe 14 : Chromatogramme d'un dopage de haute concentration

Annexe 15 : Premier chromatogramme obtenu par SPME sur GC-FID

Annexe 16 : Chromatogrammes utilisé pour estimer les LD et les LQ des THM

Annexe 17 : Courbes d'étalonnages des 4 THM (rapport des aires)

Annexe 18 : Courbes d'étalonnages des 4 THM (aires)

Annexe 19 : Courbes d'étalonnages du 18/05/2018

Annexe 1 : principales propriétés physico-chimiques des trihalométhanes. [21]

THM	Numéro CAS	Formule	M. molaire (g/mol)	Solubilité ds l'eau à 20 °C (mg/L)	Pression de vapeur (mm Hg)
Chloroforme	67-66-3	CHCl ₃	119,4	8. 10 ³	160
Bromodichlorométhane	75-27-4	CHBrCl ₂	163,8	4,5. 10 ³	50
Dibromochlorométhane	124-48-1	CHBr ₂ Cl	208,3	2,7. 10 ³	76
Bromoforme	75-25-2	CHBr ₃	252,7	3,1. 10 ³	5

Annexe 2 : précautions et propriétés toxiques des trihalométhanes

THM	Précautions (SGH)	Classification IARC
Chloroforme CHCl ₃		2B
Bromodichlorométhane CHBrCl ₂		2B
Dibromochlorométhane CHBr ₂ Cl		3
Bromoforme CHBr ₃		3

2B : potentiellement cancérigène pour l'homme / 3 : non classifiable quant à sa caractère cancérigène pour l'homme

Annexe 3 : paramètres optimisés en injections liquides sur les colonnes HP-5MS et DB-624

Colonne (HP-5MS-Agilent, USA)	30 m x 0.320 mm x 0.25 µm
Mode d'injection	Split ratio 5 : 1
Gaz vecteur	H ₂ ; 1,71 mL/min ; 7,5 Psi
Programme de température du four	35 °C (6 minutes), avec 35 °C/min jusqu'à 280 °C (1 minute)
Température de l'injecteur	250 °C

Colonne (DB-624-Agilent, USA)	30 m x 0.250 mm x 1.40 µm
Mode d'injection	Split ratio 5 : 1
Gaz vecteur	H ₂ ; 1,71 mL/min ; 7,5 Psi
Programme de température du four	35 °C (6 minutes), avec 35 °C/min jusqu'à 245 °C (1 minute)
Température de l'injecteur	250 °C

Annexe 4 : Composition des solutions étalons

Nom	Formule chimique	Pureté (%)	Concentration (µg/L)	Déviaton (µg/L)	Marque
Bromodichlorométhane	CHBrCl ₂	98.0	2000	± 108.80	Cluzeau Info Labo France
Dibromochlorométhane	CHBr ₂ Cl	98.0	2000	± 108.80	
Tribromométhane	CHBr ₃	99.1	2000	± 108.80	
Trichlorométhane	CHCl ₃	99.8	2000	± 108.80	
Méthanol	CH ₃ OH	99.9			

Nom	Formule chimique	Pureté (%)	Concentration (µg/L)	Déviaton (µg/L)	Marque
Bromodichlorométhane	CHBrCl ₂	98.0	100	± 5.44	Cluzeau Info Labo France
Dibromochlorométhane	CHBr ₂ Cl	98.0	100	± 5.44	
Tribromométhane	CHBr ₃	99.1	100	± 5.44	
Trichlorométhane	CHCl ₃	99.8	100	± 5.44	
Méthanol	CH ₃ OH	99.9			

Nom	Formule chimique	Pureté (%)	Concentration (µg/L)	Déviaton (µg/L)	Marque
Fluorobenzène	C ₆ H ₅ F	99.0	2000	± 108.80	Cluzeau Info Labo France
Méthanol	CH ₃ OH	99.9			

Annexe 5 : Solutions utilisées pour la préparation des dopages

. **Méthanol** ≥ 99,9 %, HiPerSolv CHROMANORM® ACS, Reag. Ph. Eur., super gradient grade pour HPLC, pour les systèmes UPLC/UHPLC/Ultra HPLC. Marques : VWR Chemicals. (n°85681,290)

. **Eau**, HiperSolv CHROMANORM® pour HPLC. Marques : VWR Chemicals. (n°23595,328)

. **Chlorure de sodium** AnalaR NORMAPUR. Marques : VWR Chemicals. (n°27810,295)

Annexe 6 : Matériel utilisé en SPME

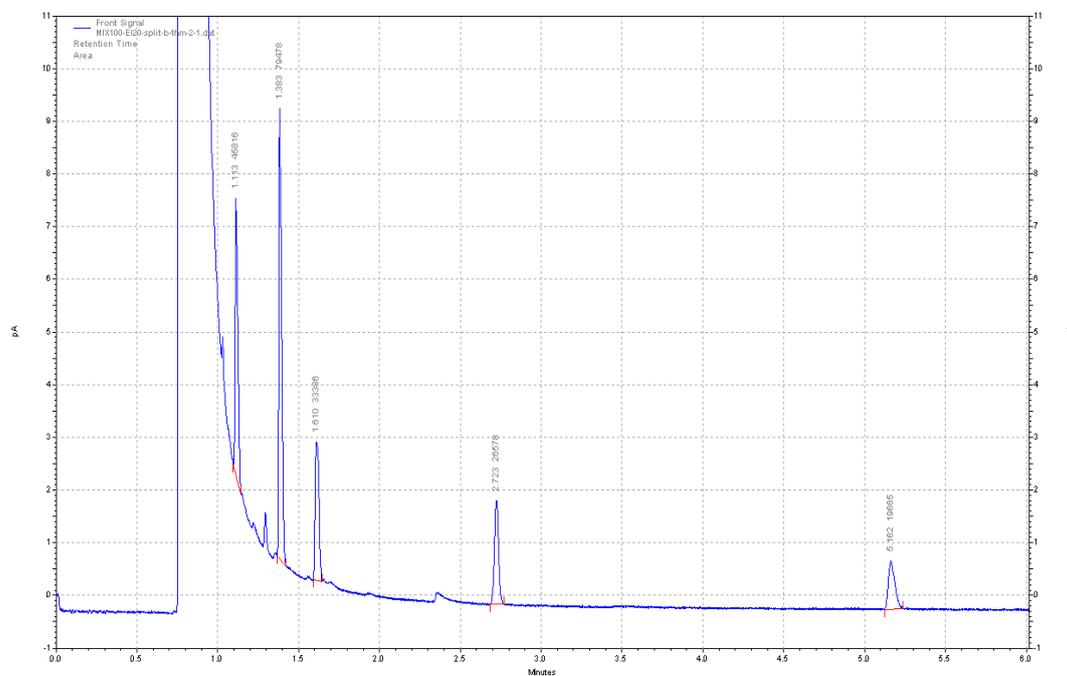
- . **Fibre** : SPME Fiber Carboxen/PDMS Manual Merlin 75 µm. Marque : Agilent (n°SU57344U)
- . **Holder** : SPME fiber holder for manual sampling. Marque : Agilent (n°391896401)
- . 15 mL SPME Stand. Marque : Agilent. (n°SU5735U)
- . **Linier** : Ultra Inert, straight 0.75mm ID Recommended for SPME injections. Marque : Agilent. (n°5190-4048)
- . Merlin Microseal, SPME repl, 23Ga, 1/pk. Marque : Agilent (n°392609902)
- . Ecrou pour Merlin Microseal hte pression. Marque : Agilent (n°5182-3445)
- . Ferrule, d.i. 0,4 mm, 15% Graphite/85% Vespel, colonne courte 0,1-0,25 mm, 10/pqt. Marque : Agilent (n°5181-3323)
- . 2 Ecrous pour colonne capillaire. Marque : Agilent (n°5181-8830)
- . **Vials**, screw top, clear glass, volume 15 mL. Marque : Supelco (n°27162)
- . Assembled screw cap with hole with PTFE/silicone septum. Black polypropylene hole cap, PTFE/silicone, septum thickness 1.5 mm, for use with 15 ML vial. Marque : Supelco (n°27020)

Annexe 7 : Paramètres complémentaires de la GC-FID

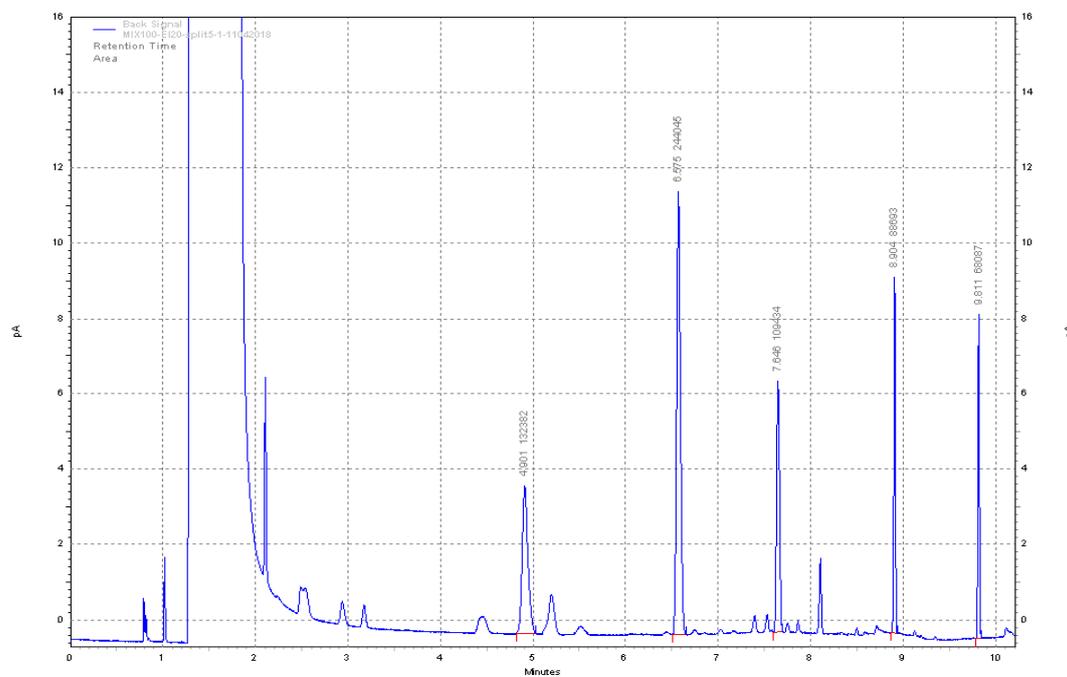
Injecteur	Colonne	FID
Heater : 300°C (SPME) Pressure : 15 psi Splitless	Control mode : Pressure Pressure : 15 psi	Heater : 300°C H ₂ flow : 30 mL/min Air flow : 400 mL/min

Annexe 8: Comparaison des spectres obtenus sur la DB-624 et la HP-5MS en injection liquide

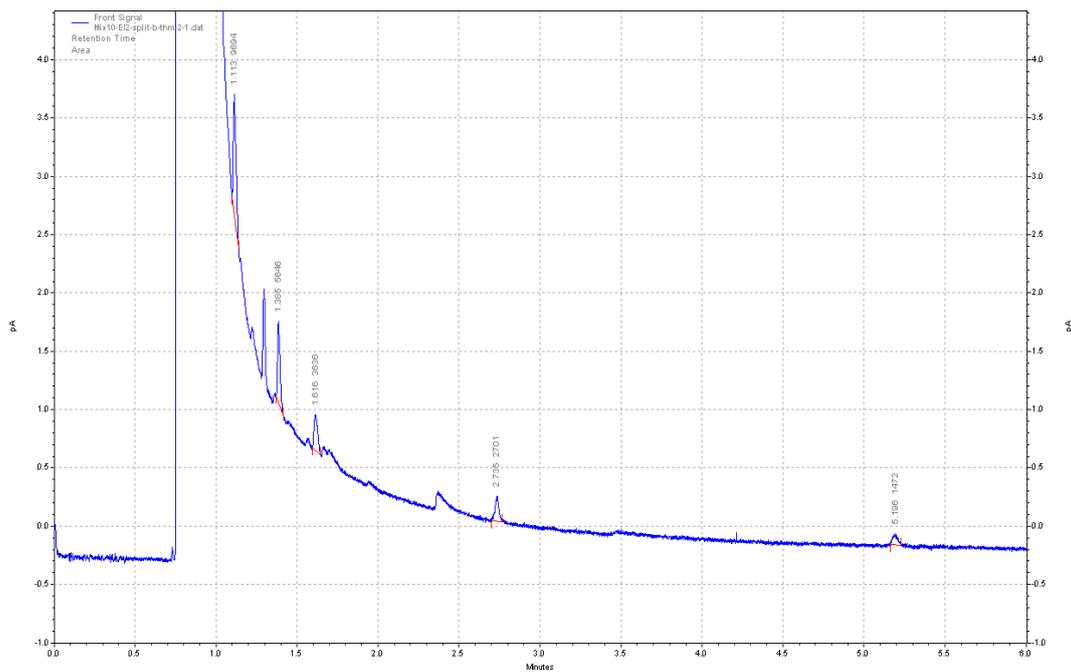
Composés	CHCl ₃	fluorobenzène	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃
HP-5MS/ Tr (min)	1.1	1.4	1.6	2.7	5.2
DB-624 / Tr (min)	4.9	6.6	7.7	8.9	9.8



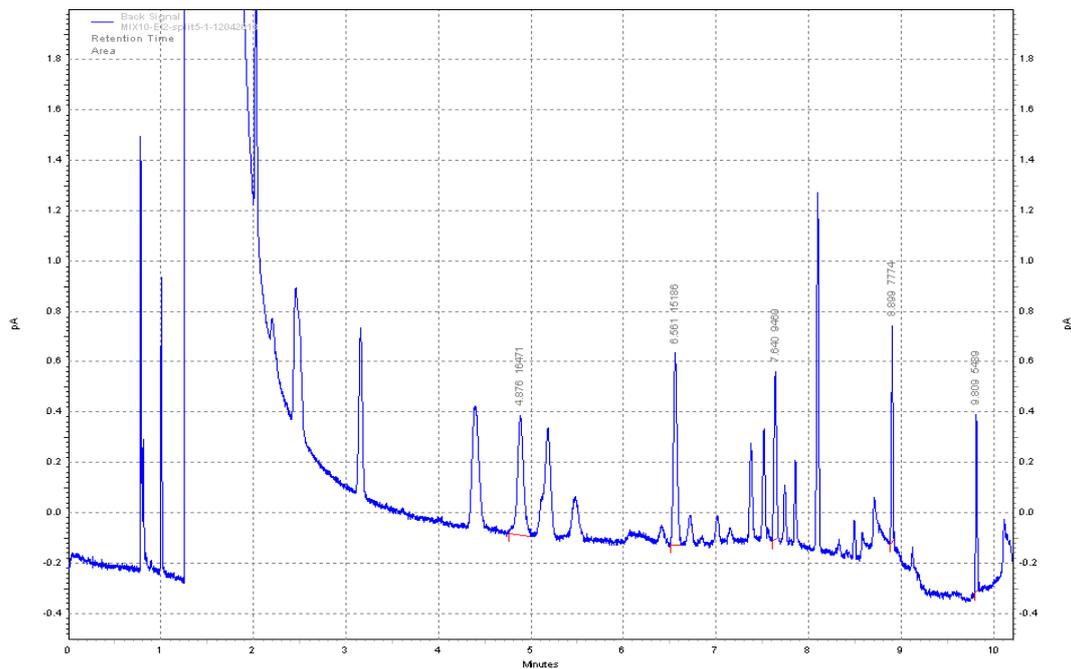
1) HP-5MS : Mix des THMs (100 µg/mL) – Fluorobenzène (20 µg/mL)



2) DB-624 : Mix des THMs (100 µg/mL) – Fluorobenzène (20 µg/mL)

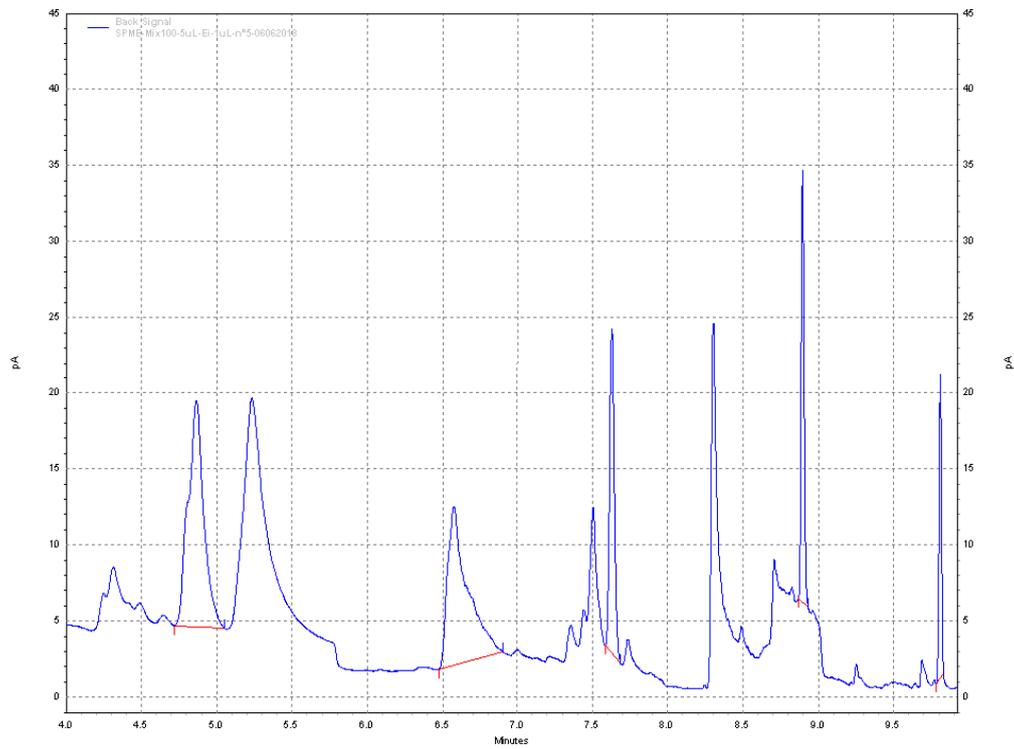


3) HP-5MS : Mix des THMs (10 µg/mL) – Fluorobenzène (2 µg/mL)

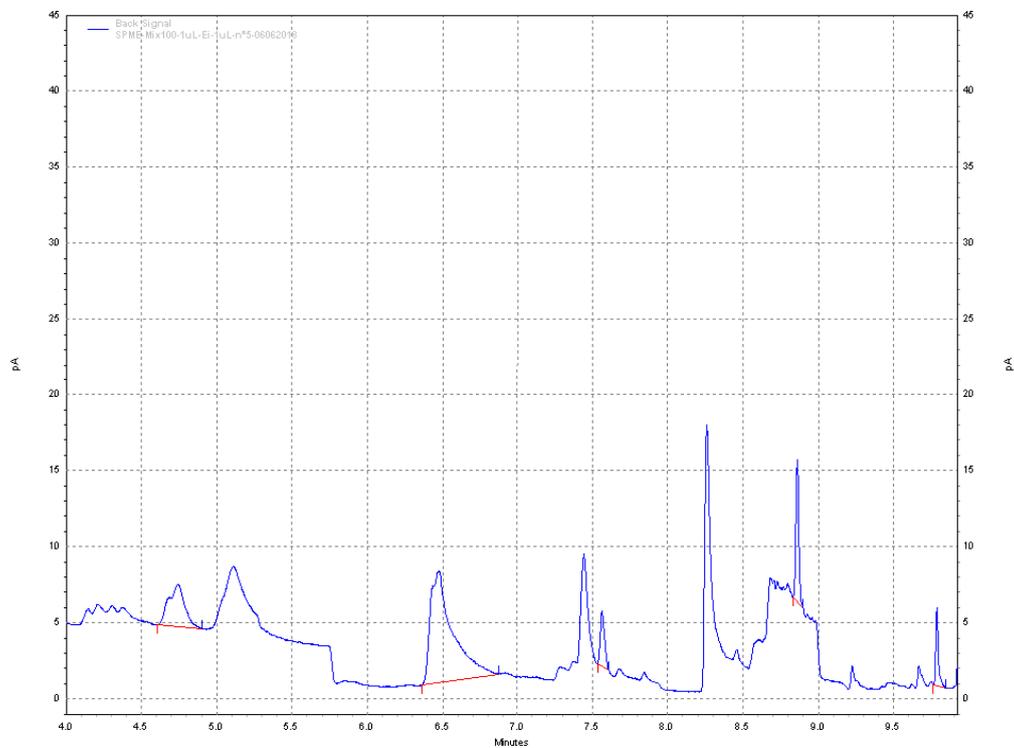


4) DB-624 : Mix des THMs (10 µg/mL) – Fluorobenzène (2 µg/mL)

Annexe 9 : Chromatogrammes du point haut (100 µg/L) et du point bas (10 µg/L) de la gamme d'étalonnage



1) dopage dans eau (HiperSolv) dégazé – THM (100 ± 9 µg/L) – Ei (4 ± 0,6 µg/L)



2) dopage dans eau (HiperSolv) dégazé – THM (10 ± 2 µg/L) – Ei (4 ± 0,6 µg/L)

Annexe 10 : Coordonnées des sites de prélèvements

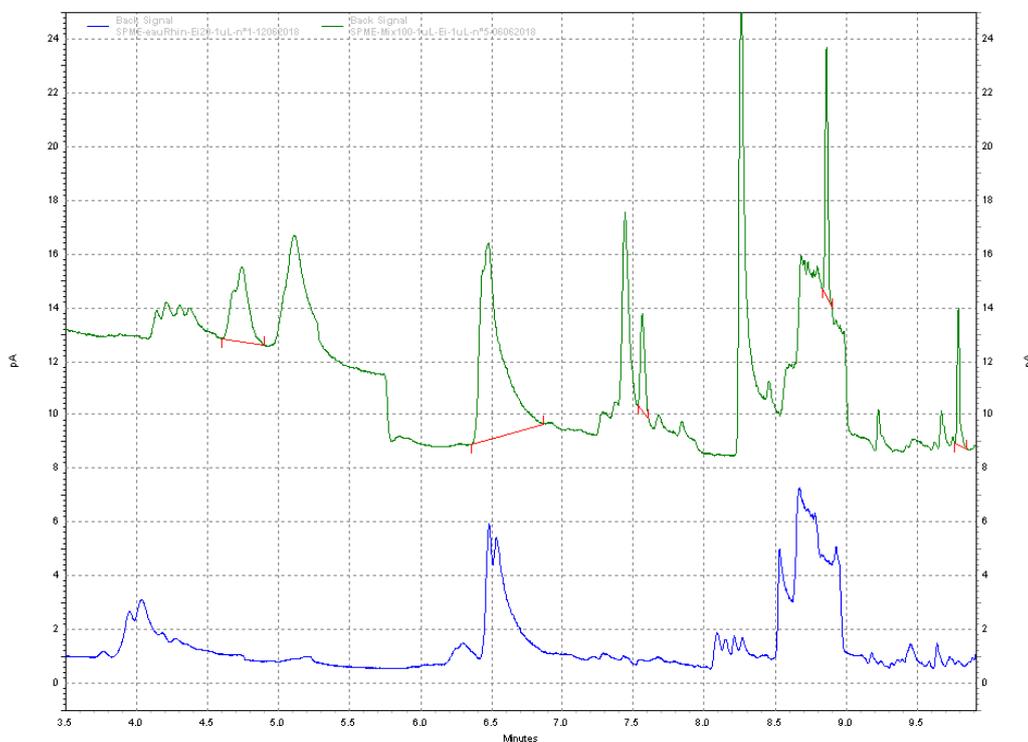
N° du site	Latitudes (°)	Longitudes (°)	label	Lieu proche
1	48.570154	7.801733	Rhin	Strasbourg
2	47.844099	7.562270	Rhin Amont	Golf du Rhin
3	47.844554	7.556692	Canal Amont	Golf du Rhin
4	48.024327	7.577717	Rhin Aval	Vogelgrun
5	48.009998	7.586384	Canal Aval	Vogelgrun
6	47.896514	7.562315	Amont CNPE	Blodelsheim
7	47.896514	7.562315	Amont CNPE	Blodelsheim
8	47.906632	7.571116	Rive Est	CNPE Fessenheim
9	47.914176	7.571375	Rive Ouest	CNPE Fessenheim

Les prélèvements 6 et 7 ont eu lieu au même endroit mais à des jours différents

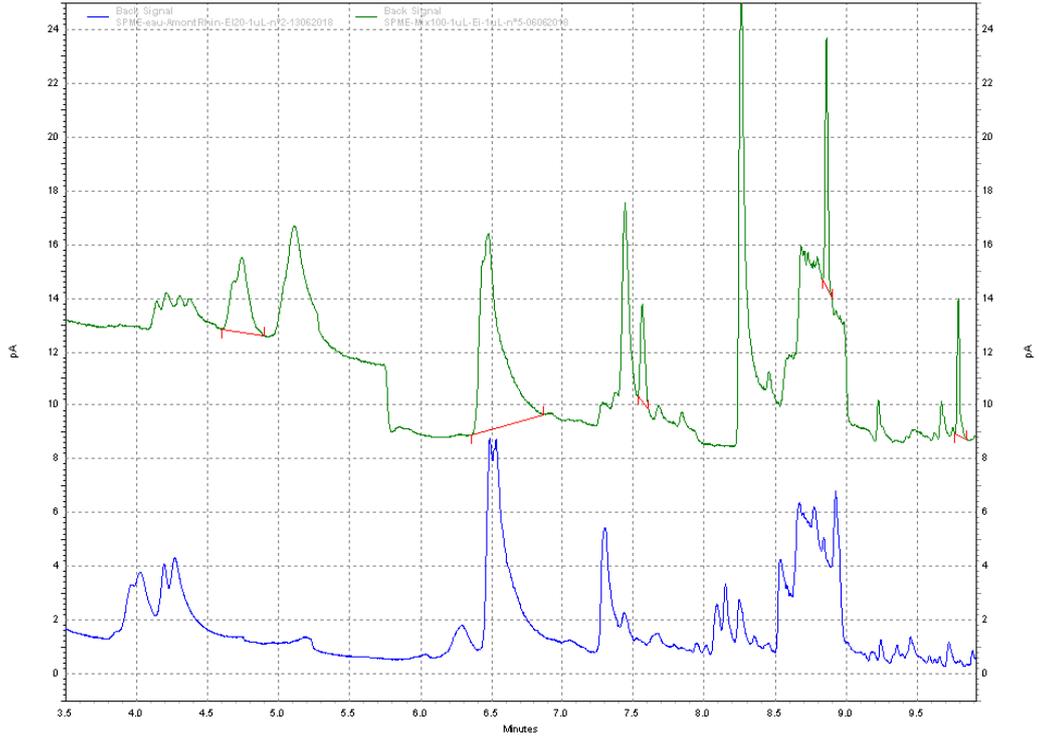
Annexe 11 : Chromatogrammes des échantillons de terrain.

Composés	CHCl ₃	fluorobenzène	CHCl ₂ Br	CHClBr ₂	CHBr ₃
Tr (min)	4.7	6.5	7.6	8.9	9.8

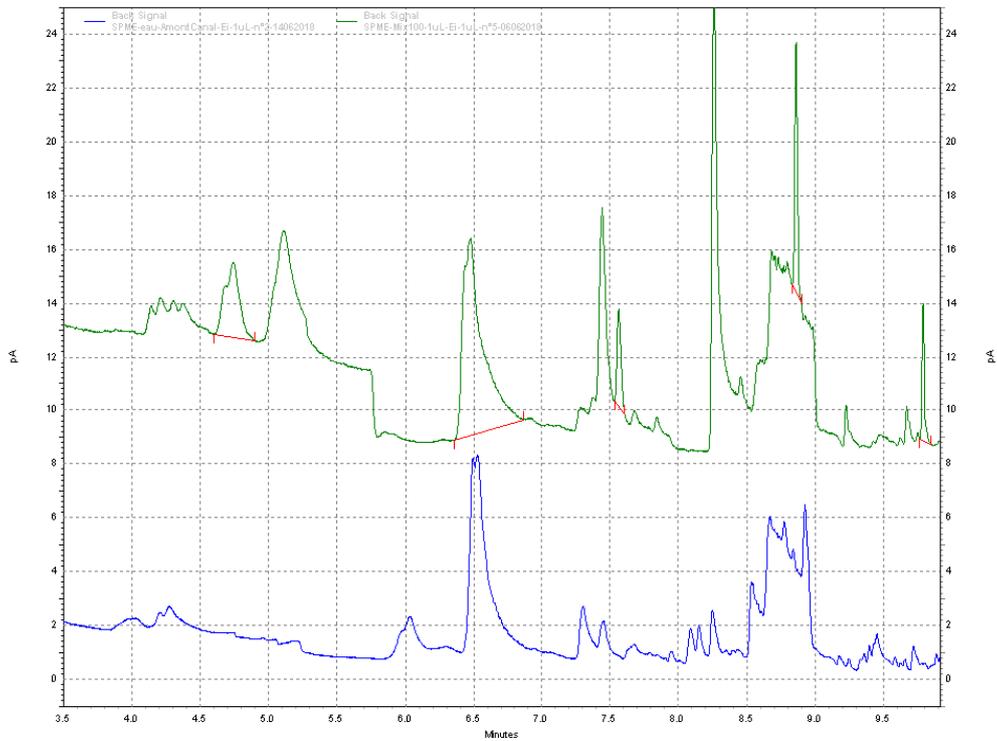
Le tracé en vert correspond au dopage avec THM (10µg/L) + Ei (4µg/L) / Le tracé en bleu correspond aux échantillons de terrain



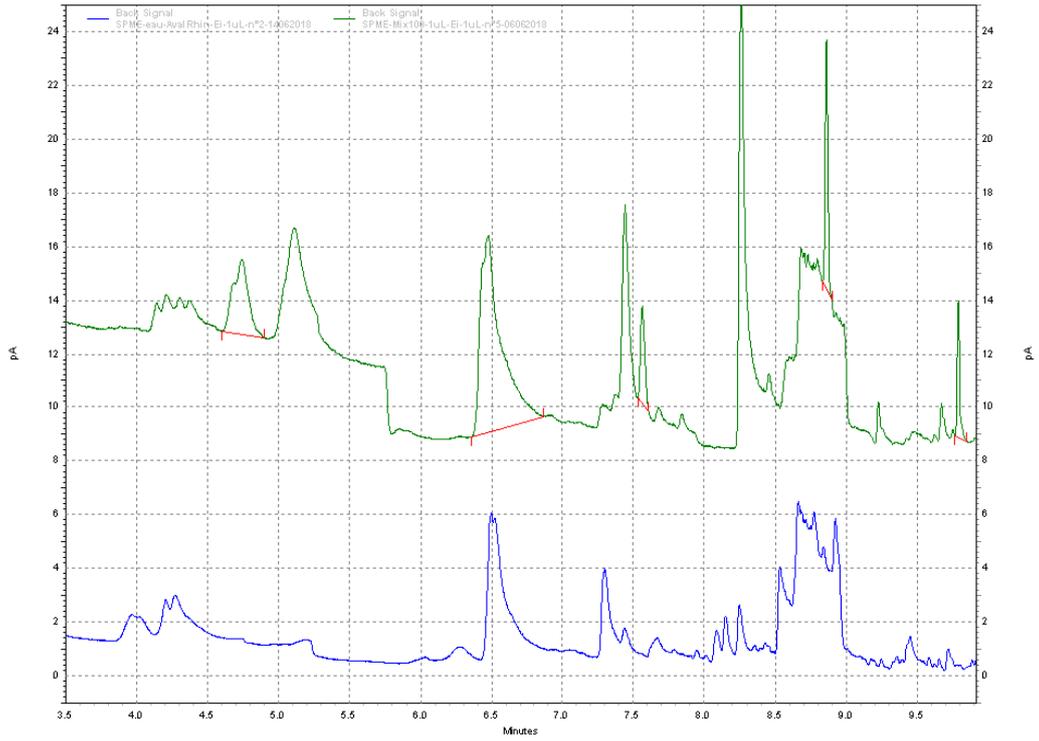
1) eaux du site 1 – Fluorobenzène (4 ± 0,6 µg/L)



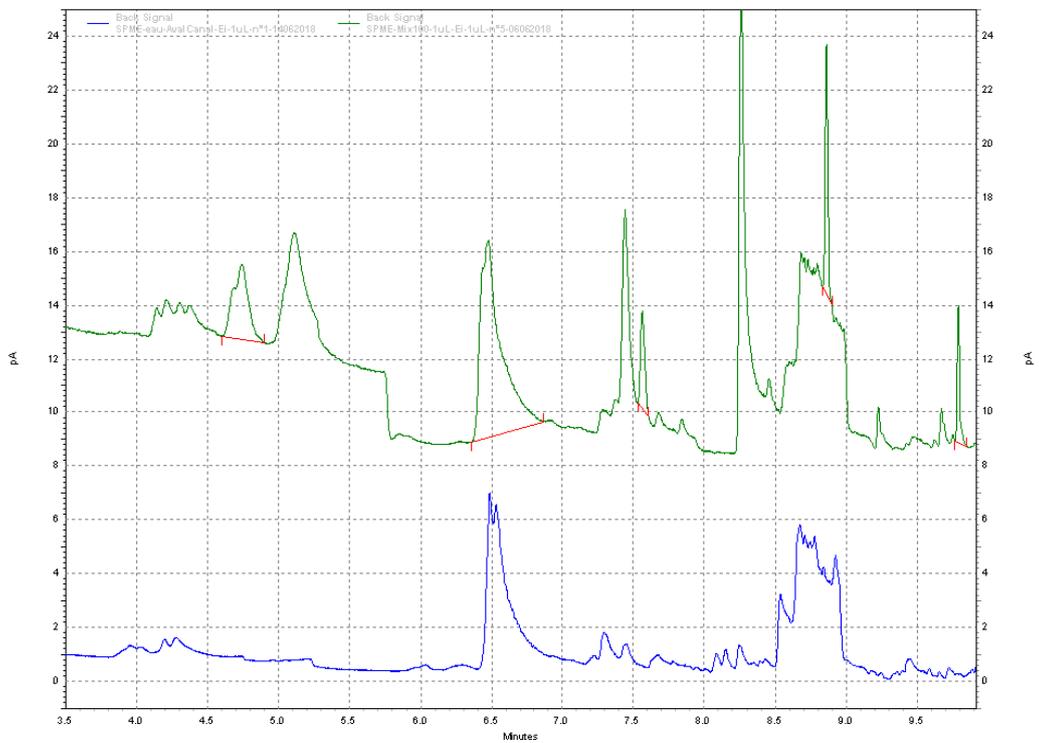
2) eaux du Site 2 – Fluorobenzène ($4 \pm 0,6 \mu\text{g/L}$)



3) eaux du Site 3 – Fluorobenzène ($4 \pm 0,6 \mu\text{g/L}$)



4) eaux du Site 4 – Fluorobenzène ($4 \pm 0,6 \mu\text{g/L}$)



5) eaux du Site 5 – Fluorobenzène ($4 \pm 0,6 \mu\text{g/L}$)

Annexe 12 : méthode d'estimation de la limite de détection et de quantification

L'estimation se base sur la méthode du h_{\max} :

1)

Le chromatogramme avec ($C = 10 \mu\text{g/L}$) qui correspond au point bas de la gamme d'étalonnage est sélectionné. Sur le chromatogramme :

- mesurer la hauteur du pic du THMs correspondant. Il est alors possible de calculer le facteur de réponse ($R = h_{\text{pic}} / q_{\text{inj}}$)
- mesurer la largeur du pic à mi-hauteur.
- déterminer une fenêtre de 10 largeurs du pic à mi-hauteur de part et d'autre du temps de rétention.

2)

Le chromatogramme correspondant au blanc en SPME, effectué le même jour que le chromatogramme précédent, est sélectionné. Sur le chromatogramme :

- agrandir au maximum le bruit de fond
- Sélectionner la fenêtre définie précédemment
- mesurer l'écart maximal (h_{\max}) entre le pic le plus bas et le pic le plus haut du bruit de fond

Remarque : les zones de la ligne de base en forme de marche d'escalier n'ont pas été considérées comme une fluctuation du bruit de fond.

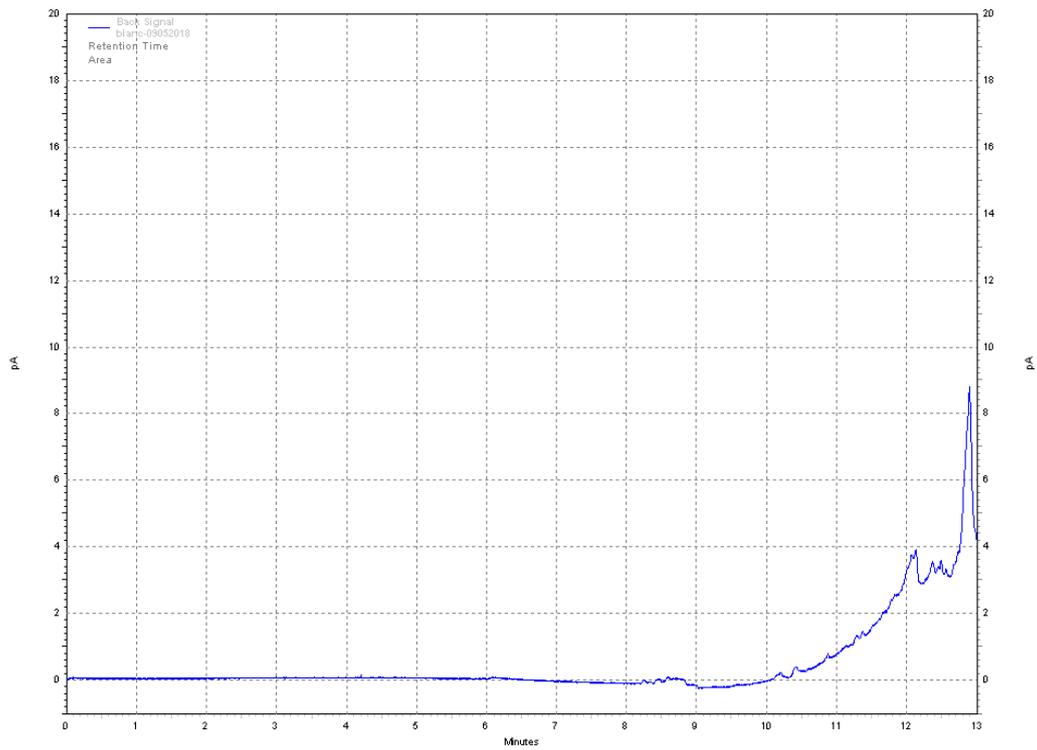
3)

Calculer les limites en appliquant la formule suivante :

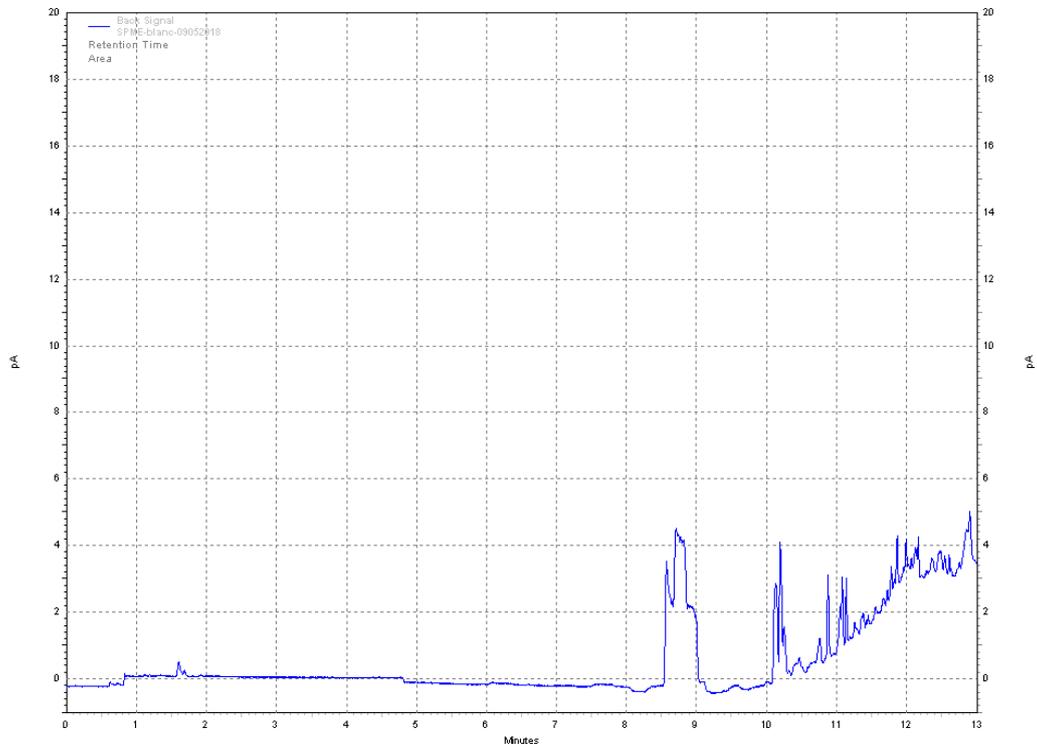
$$L_D = \dots \times h_{\max}$$

$$L_Q = \dots \times h_{\max}$$

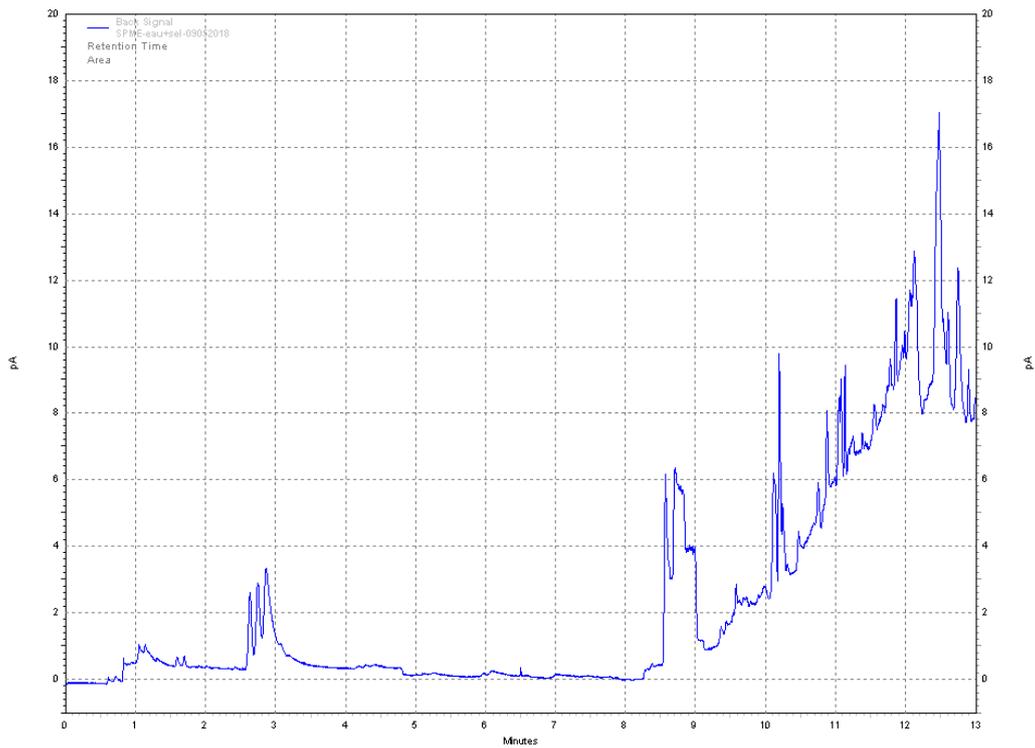
Annexe 13 : Identifications des pics parasites



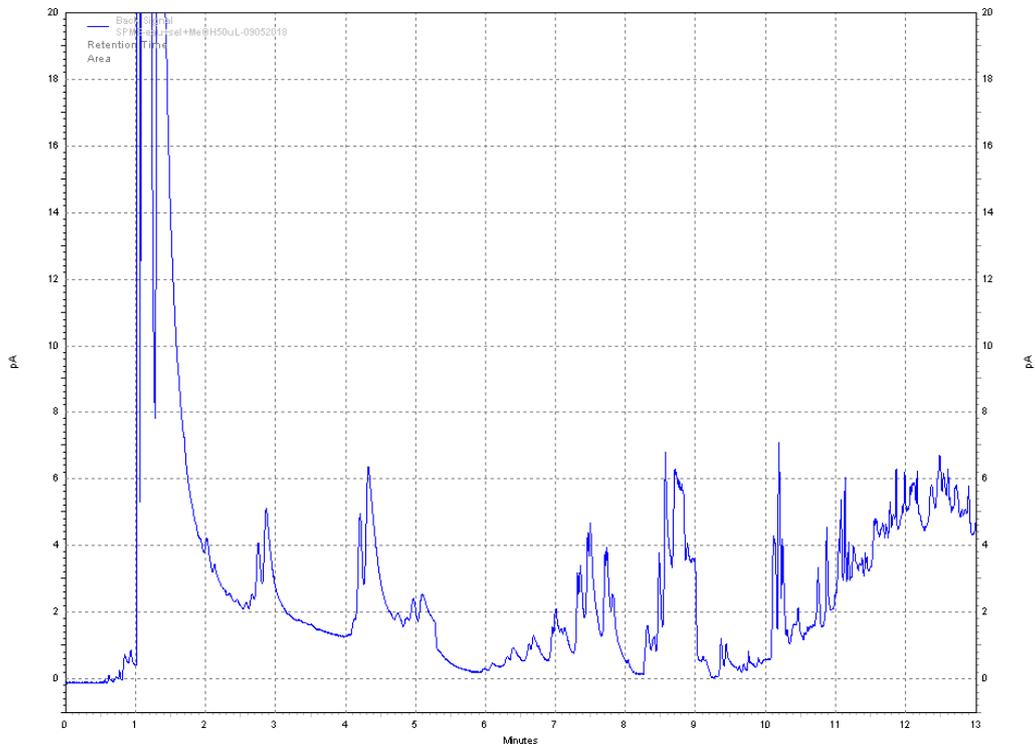
1) blanc



2) blanc – SPME (chromatogramme obtenue après 1h de conditionnement de la fibre)



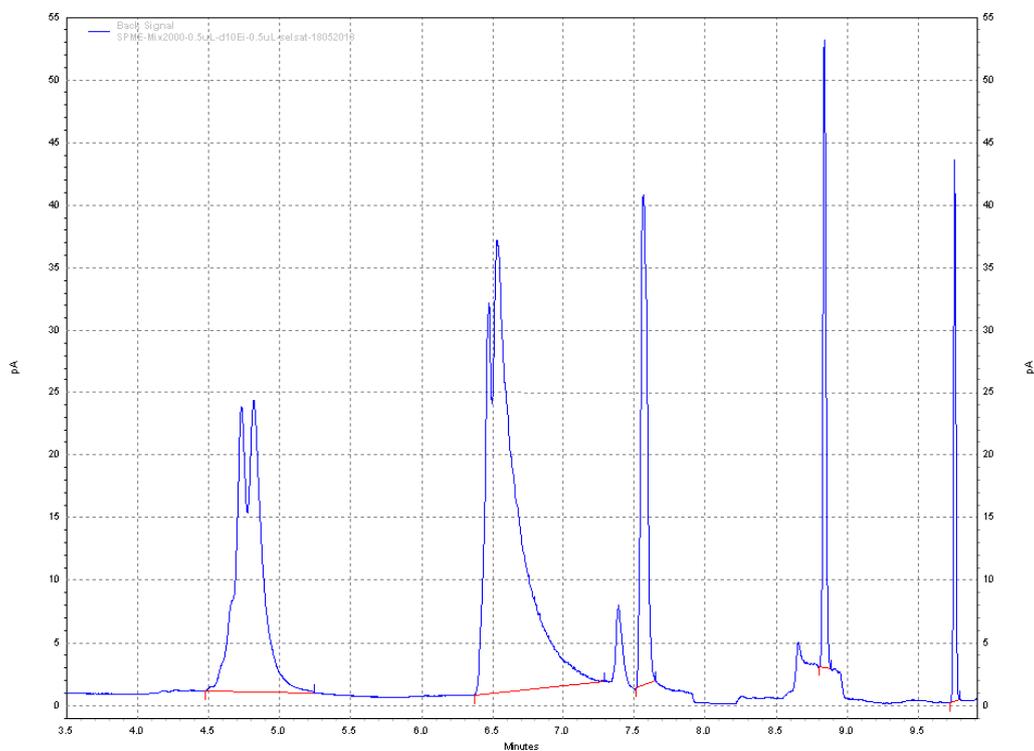
3) SPME – 5 mL d'eau (HiperSolv) + (\pm 1,3g NaCl)



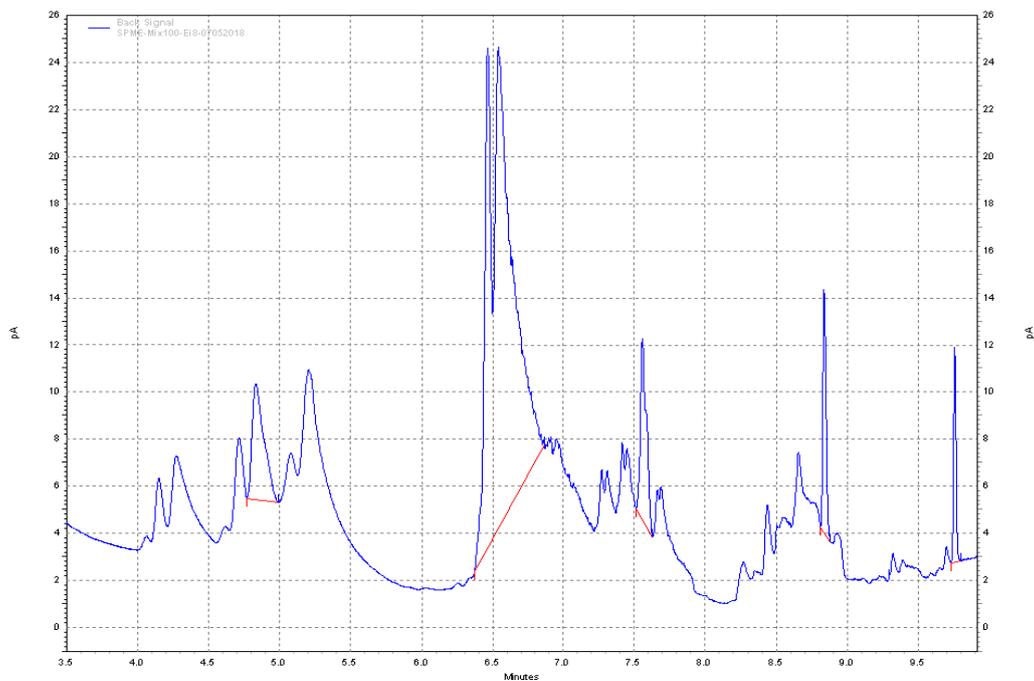
4) SPME – 5 mL eau (HiperSolv) + (\pm 1.3 g de NaCl) + 50 µL CH₃OH (HiperSolv) contaminé par du CHCl₃

Annexe 14 : Chromatogramme d'un dopage de haute concentration

5 mL d'eau (HiperSolv) / (2.03 ± 0.01 g) NaCl / agitation : 750 rpm / temps d'extraction : 25 min.
THM (200 ± 20 µg/L) préparé depuis Mix2000 – Ei (20 ± 4 µg/L)



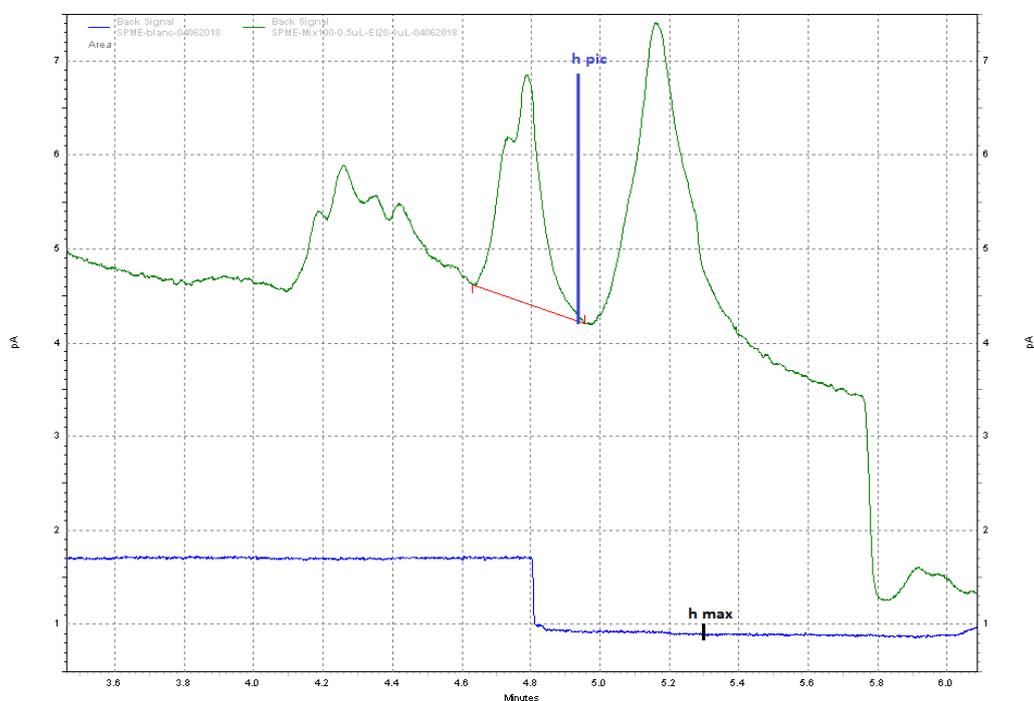
Annexe 15 : Premier chromatogramme obtenu par SPME sur GC-FID



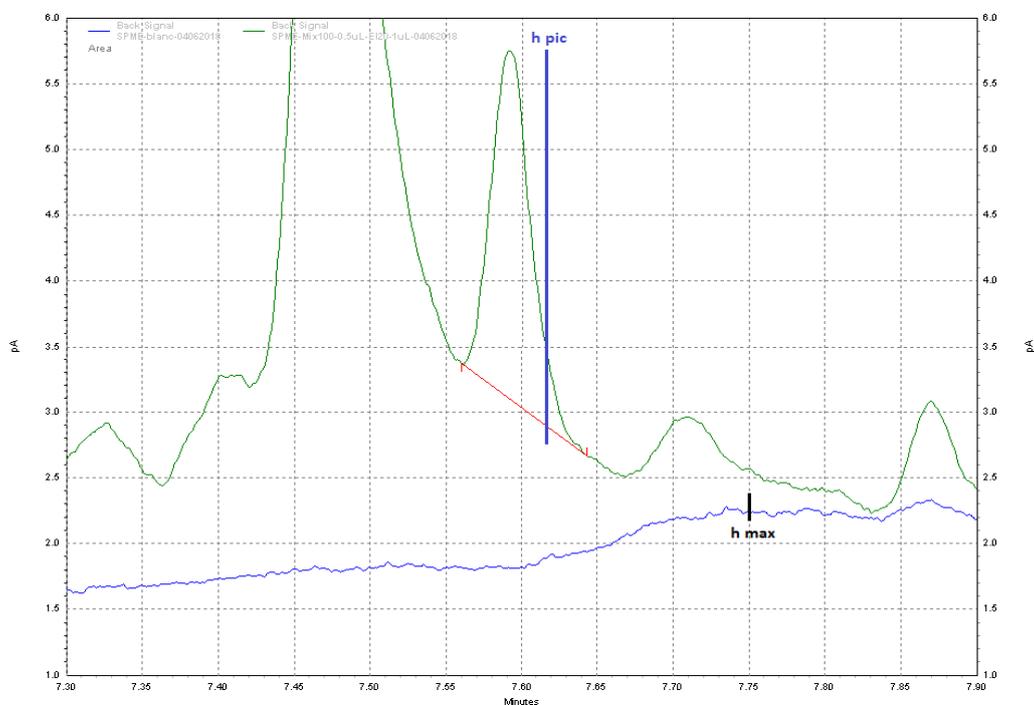
Liner de 4 mm de diamètre / T°C injecteur : 280°C / Dopage avec THM (100 ± 9 µg/L) et Ei (8 ± 2 µg/L)

Annexe 16 : Chromatogrammes utilisé pour estimer les LD et les LQ des THM

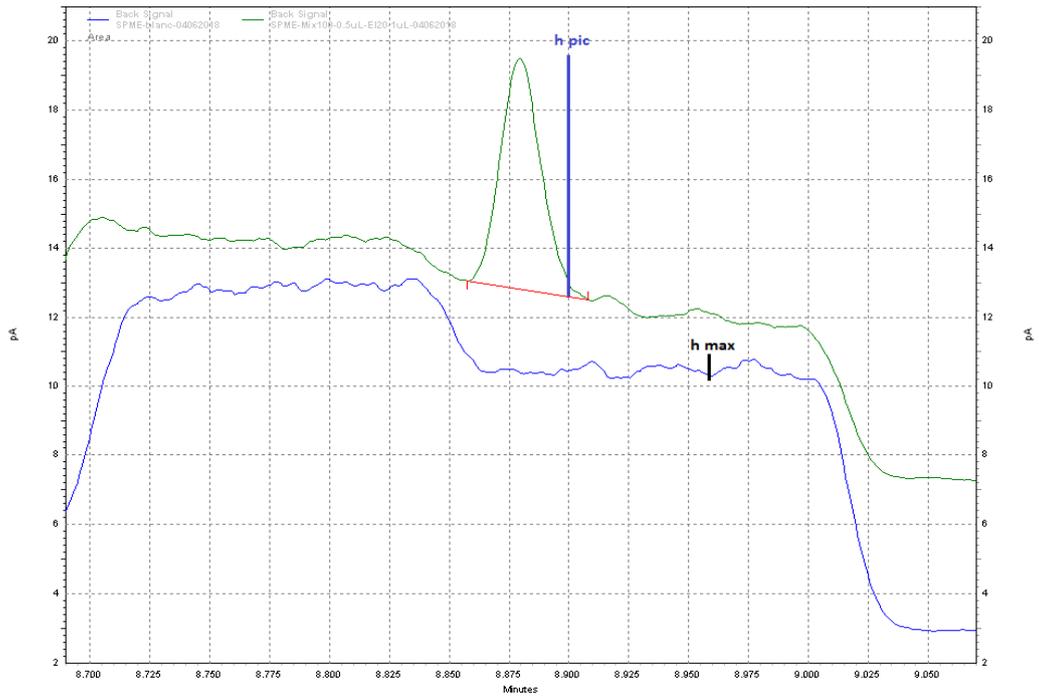
Le tracé en vert correspond au dopage avec THM ($10 \pm 2 \mu\text{g/L}$) + Ei ($4 \pm 0,6 \mu\text{g/L}$) / Le tracé en bleu correspond au blanc SPME obtenue le même jour.



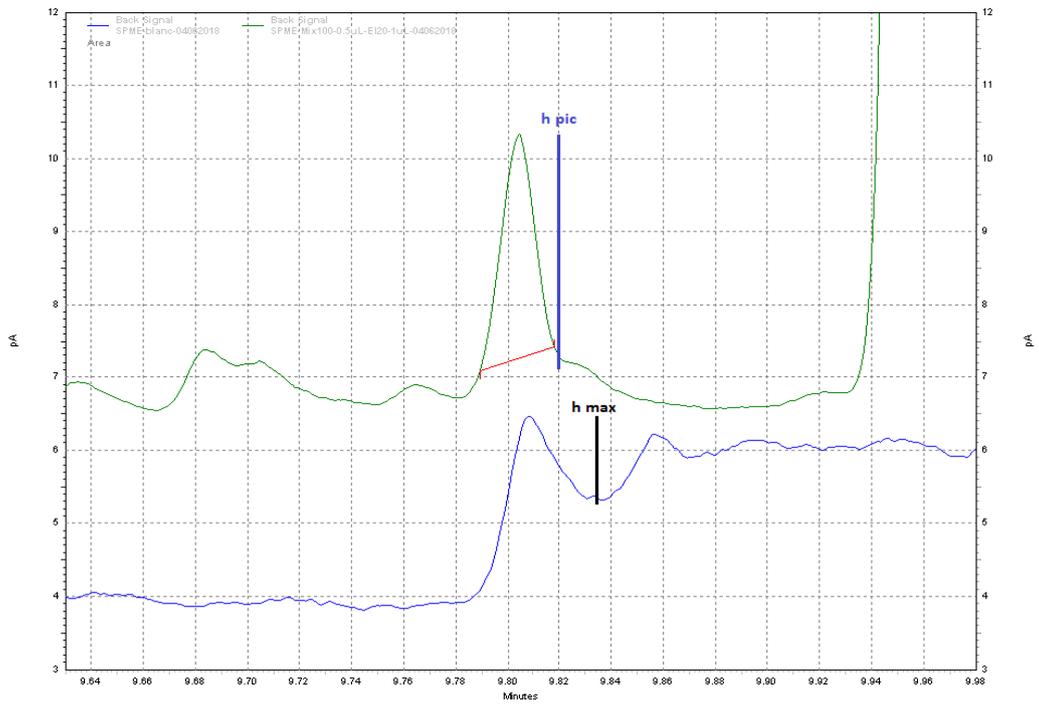
1) CHCl₃



2) CHCl₂Br



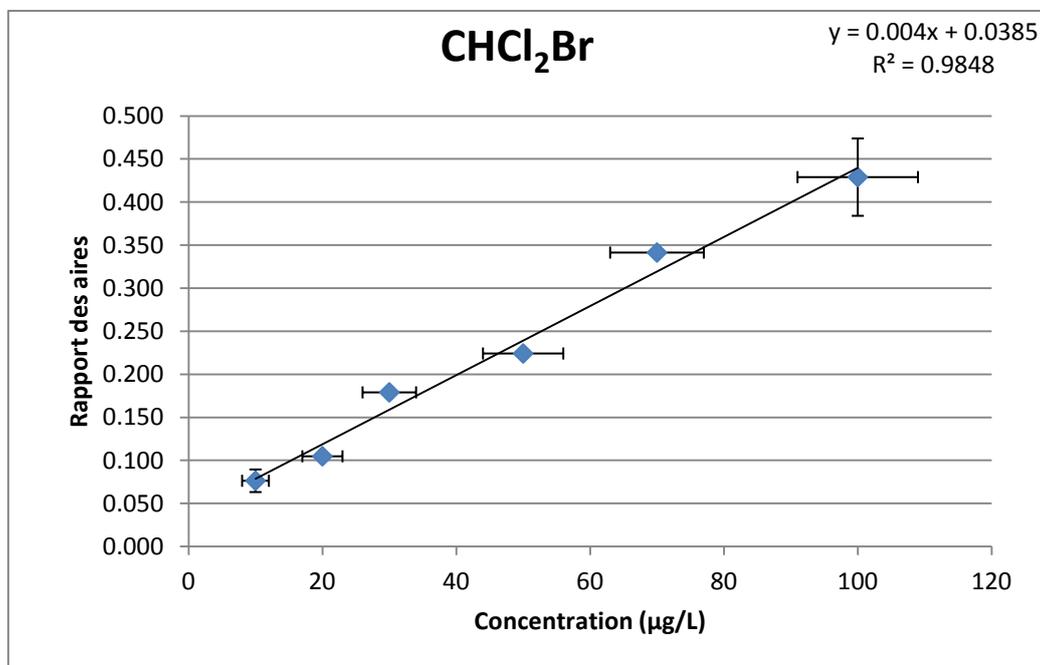
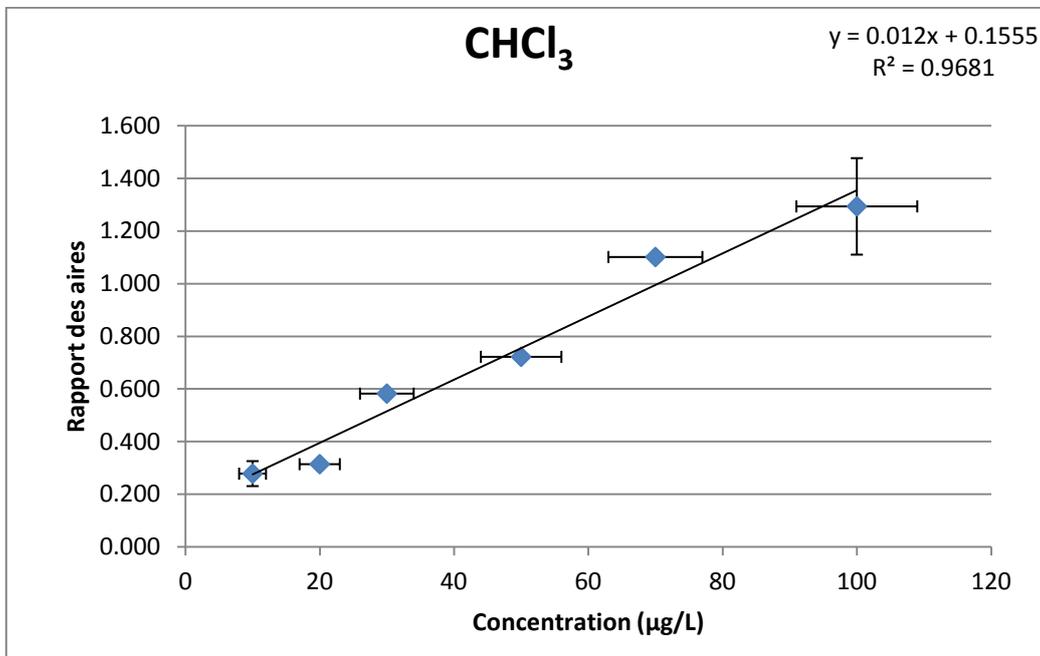
3) CHClBr₂

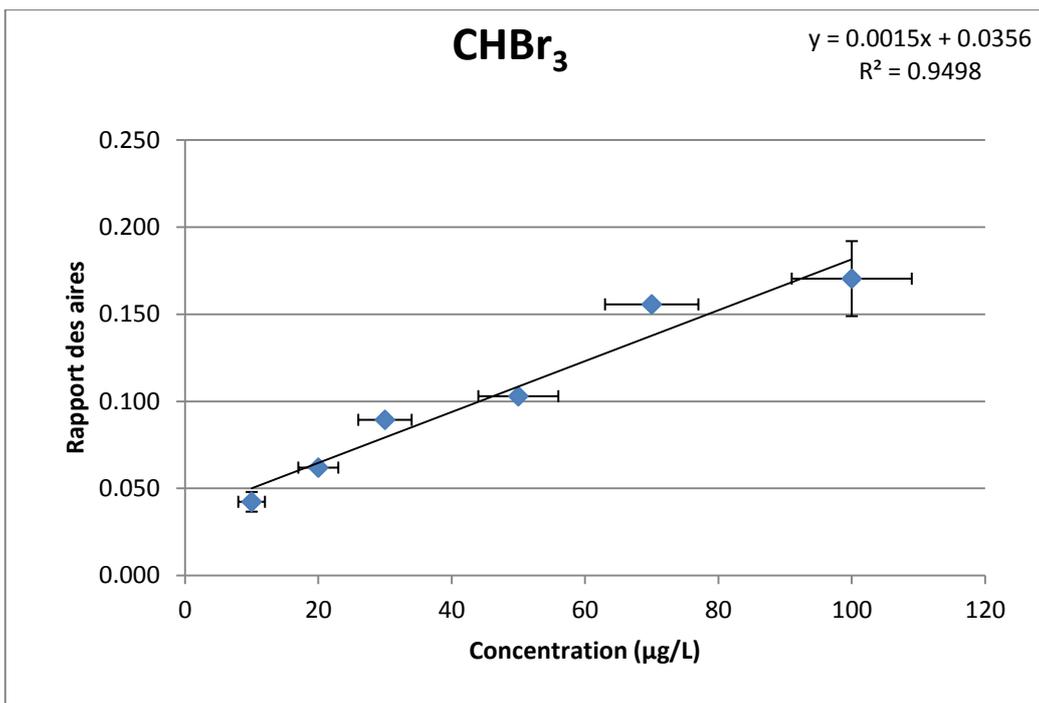
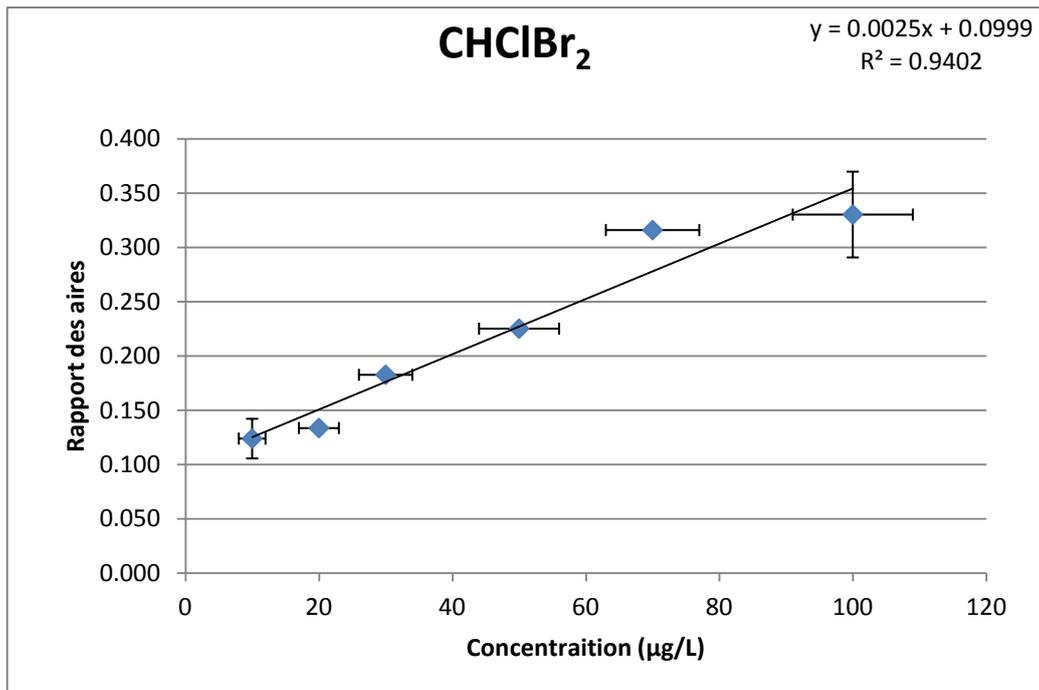


4) CHBr₃

Annexe 17 : Courbes d'étalonnages des 4 THM (rapport des aires)

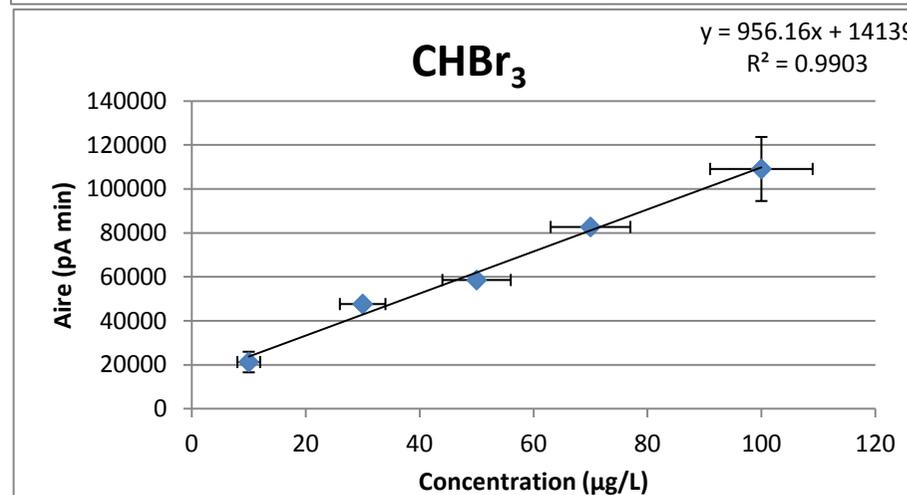
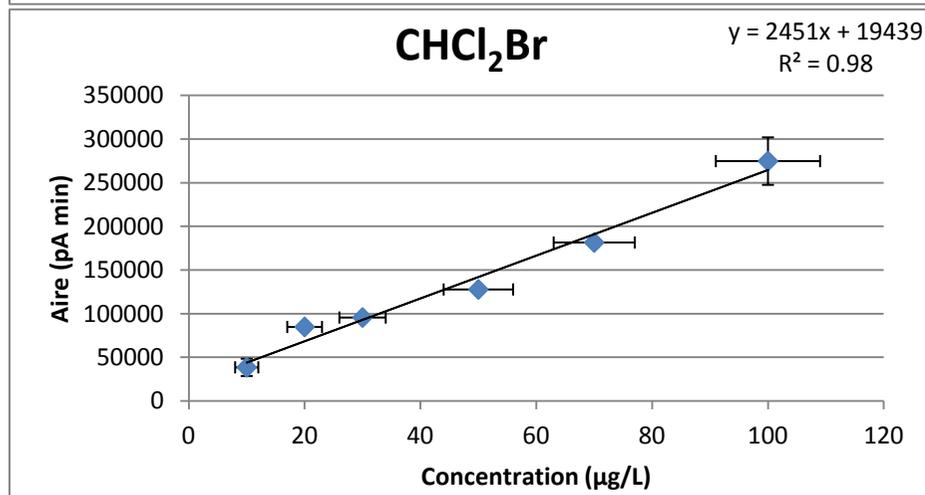
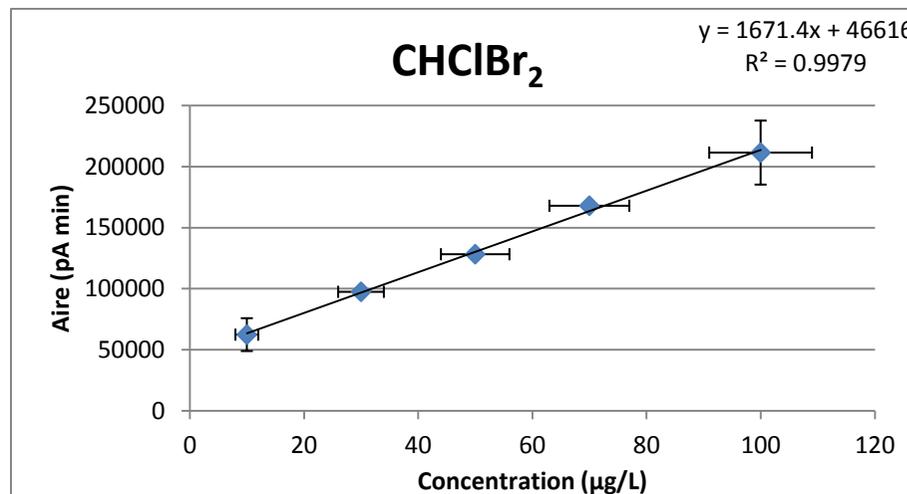
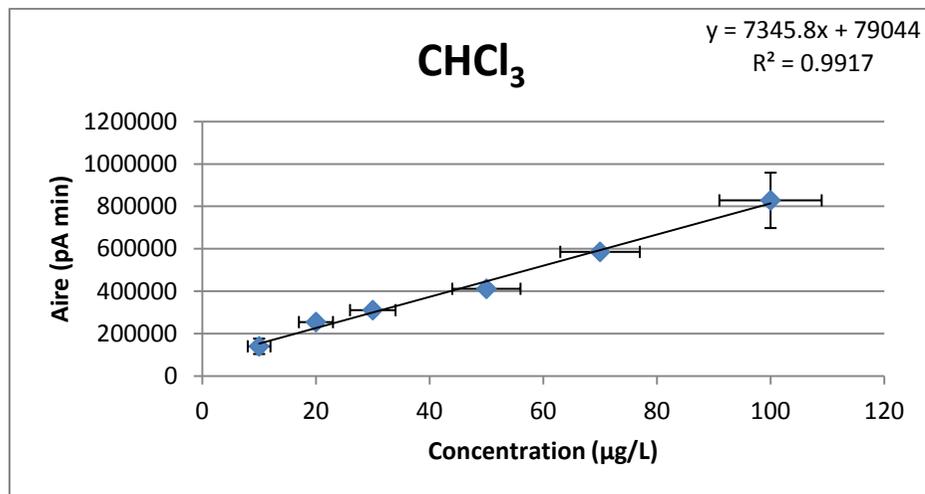
Le rapport des aires correspond au rapport de l'aire du THM sur l'aire de l'étalon interne. Les incertitudes sur le point à 10 et 100 µg/L ont été évaluées par 9 essais de reproductibilité.





Annexe 18 : Courbes d'étalonnages des 4 THM (aires)

Les courbes d'étalonnage sont tracées à partir des aires et pas des rapports des aires (figure 2). Les incertitudes sur le point à 10 et 100 µg/L ont été évaluées par 9 essais de reproductibilité.



Annexe 19 : Courbes d'étalonnages du 18/05/2018

Conditions : 5 mL d'eau ultra-pur / ajout de 2.08 ± 0.05 g de NaCl / agitation magnétique : 750 rpm / temps d'extraction : 30 min / effectué sur 2 jours à température ambiante de 24 °C. (n=6) après suppression de deux points aberrants. Incertitude sur les points non déterminées.

Gamme informelle effectuée afin de vérifier la linéarité dans le cas d'une gamme basse en dessous de 100 µg/L.

