



THÈSE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE

en Sciences de l'Environnement

Préparée au sein de

l'Ecole Doctorale Sciences de l'Environnement (ED251)

au Laboratoire de Chimie de l'Environnement (LCE)

Présentée par

Rana CHEHAB

Développement de systèmes automatisés pour l'analyse des chloramines inorganiques et des trihalométhanes dans les eaux

Soutenue le 19 Décembre 2019, devant le jury composé de :

Stephan BROSILLON, Professeur des Universités, Université de Montpellier

Président du jury
et Rapporteur

Victor CERDÀ, Professeur Émérite, Université des îles Baléares, ESPAGNE

Rapporteur

Valérie PICHON, Professeur des Universités, Sorbonne Université

Examineur

Justine CRIQUET, Maître de Conférences, Université de Lille

Examineur

Jean-Luc BOUDENNE, Professeur des Universités, Aix-Marseille Université

Directeur

Fabien ROBERT-PEILLARD, Maître de Conférences, Aix-Marseille Université

Co-Directeur

Remerciements

Cette étude a été effectuée au Laboratoire Chimie de l'Environnement (LCE) au sein de l'équipe Transfert, Réactivité et Analyse des Micropolluants dans l'Environnement (TRAME) à l'Université Aix-Marseille.

Je remercie Henri Wortham, Directeur de LCE, pour la confiance qu'il m'a accordée en m'accueillant au sein de laboratoire.

Mes sincères remerciements seraient accordés à mes directeurs de thèse Jean-Luc Boudenne et Fabien Robert Peillard. D'abord, un grand merci à Jean-Luc, pour m'avoir donné la chance de vivre cette expérience fructueuse, pour la confiance et les conseils qu'il m'a donnés et pour l'accompagnement qu'il a fait pour moi tout au long de la réalisation de cette thèse, je n'oublierais pas ses encouragements qui m'ont motivée dès la première réunion, lors des congrès jusqu'au dernier moment d'encadrement. Je tiens à remercier énormément Fabien, pour son soutien qui m'a toujours poussée à avancer dans mes recherches, pour ses conseils et ses connaissances qu'il a partagées avec moi. Je n'oublierais pas sa disponibilité à toutes heures pendant les trois années. Je vous remercie, mes directeurs, pour tout petit coup de main que vous m'avez donné pendant la rédaction de ce rapport ainsi que pour les réunions et les discussions qui font que ce travail soit réalisé.

Je tiens à remercier vivement les membres de jury de cette thèse : Victor Cerdà et Stephan Brosillon d'avoir accepté de juger et rapporter ce travail ; Ainsi que, Valérie Pichon et Justine Criquet pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.

J'ai été accueillie pendant trois ans au sein d'une équipe que je considère comme ma famille en France. Je remercie tous les personnels notamment mes amis Mira, Elodie et Maxime ; je n'oublie pas également Bruno, Laurence, Carine, Didier, Laurent, Elodie, Pascale, Nadia, Etienne, Anne et Sylvain. Vous faites tous une belle partie de cette aventure.

Enfin, je tiens à remercier ma famille, notamment mon père et ma mère, je ne pourrais rien faire sans votre amour, confiance et soutien tout au long de ma vie. Et finalement, je remercie mon amour qui a été présent pour moi dans chaque étape dès que je suis arrivée en France.

Table des Matières

Liste des Figures	7
Liste des Tableaux	11
Liste des Abréviations	13
Introduction Générale	17
CHAPITRE I : État de l'art	23
I.1. Les sous-produits de désinfection dans les eaux	23
I.1.1. Généralités sur les sous-produits de désinfection	23
I.1.2. Formation et spéciation	24
I.1.3. Propriétés chimiques et physiques	31
I.1.4. Toxicité et risques sanitaires	33
I.1.5. Réglementations	37
I.2. Les méthodes de quantification des chloramines et bromamines inorganiques et des trihalométhanes dans les eaux	42
I.2.1. Méthodes de quantification des chloramines inorganiques.....	42
I.2.2. Méthodes de quantification du brome et des bromamines inorganiques	55
I.2.3. Méthodes de quantification des trihalométhanes	57
I.3. Les Systèmes d'analyse en flux	63
I.3.1. Présentation des principaux systèmes d'analyse en flux.....	64
I.3.2. Techniques avancées d'analyse en flux pour la séparation et la préconcentration d'analytes	67
I.3.3. Méthodes par analyse en flux appliquées à l'analyse des chloramines inorganiques ou des trihalométhanes.	69
I.4. Conclusion du chapitre	71
CHAPITRE II : Analyse des chloramines et des bromamines inorganiques dans les eaux	75
II.1. Introduction.....	75
II.2. Matériels et méthodes	76
II.2.1. Réactifs	76
II.2.2. Préparation des chloramines inorganiques.....	77

II.2.3. Préparation des bromamines inorganiques	82
II.2.4. Analyse par HPLC avec détection directe	85
II.2.5. Spectrophotométrie UV et spectroscopie de fluorescence en microplaques.	85
II.2.6. Instrumentation pour le système de chromatographie multi-seringues	86
II.3. Développement de l'analyseur de type Chromatographie Multi-seringues	87
II.3.1. Principe du système	87
II.3.2. Optimisations préalables au développement de l'analyseur : séparation et déttection des chloramines inorganiques	89
II.3.3. Application au système d'analyse en flux	108
II.4. Réaction des espèces réactives du chlore et du brome avec l'ABTS et détection directe par spectrophotométrie.....	125
II.4.1. Etude des conditions expérimentales.....	125
II.4.2. Performances analytiques.....	129
II.5. Conclusion du chapitre.....	131
CHAPITRE III : Développement d'une méthode d'analyse des trihalométhanes	135
III.1. Introduction	135
III.2. Matériels et méthodes.....	136
III.2.1. Réactifs et solutions.....	136
III.2.2. Instrumentation.....	137
III.3. Développement méthodologique	138
III.3.1. Optimisation de la réaction de Fujiwara.....	138
III.3.2. Extraction et préconcentration des Trihalométhanes	152
III.4. Conclusion du chapitre	167
Conclusion Générale	171
Production Scientifique.....	177
Références	181

Liste des Figures

Figure 1. Influence du pH sur la formation des chloramines inorganiques dans l'eau, pour un rapport N/Cl=1.	26
Figure 2. Courbe du point de rupture (Break point) dans l'eau naturelle selon Doré, 1989 [17].	27
Figure 3. Diagramme d'existences des espèces bromes et des bromamines selon Soulard et al, 1984 [22].	28
Figure 4. Schéma présentant les mécanismes de la formation de la bromochloramine selon Luh et al, 2012 [25].	29
Figure 5. Réaction de la formation du NDMA à partir la monochloramine selon Mitch et al, 2002 [51].	36
Figure 6. Réaction du chlore avec la DPD	43
Figure 7. Mécanisme de la réaction de Berthelot selon Moliner-Martinez et al, 2004 [74].	45
Figure 8. Structure chimique de l'ABTS et du produit oxydé ABTS ^{o+} selon Pinkernell et al, 2000 [83].	47
Figure 9. Schéma du dispositif basé sur l'extraction de la trichloramine et la réaction rédox avec l'ABTS selon Soltermann et al, 2014 [88].	49
Figure 10. Chromatogramme de la trichloramine déterminée par HS-GC/MS selon Kosaka et al, 2010 [97].	53
Figure 11. Schéma présentant le MIMS pour la quantification des chloramines inorganiques selon Kotiaho et al, 1991 [103].	54
Figure 12. Schéma présentant le système MIMS avec le four pour la quantification des chloramines inorganiques selon Shang et al, 1999 [104].	54
Figure 13. Schéma descriptif de la membrane CMS à l'intérieur du système selon Geme et al 2005, [122].	60
Figure 14. Mécanisme proposé pour la réaction de Fujiwara par Yang, 1997 [129].	63
Figure 15. Schéma descriptif du système d'analyse par injection en flux (FIA).	64
Figure 16. Schéma descriptif du système d'analyse par injection séquentielle (SIA).	65
Figure 17. Pompes utilisées dans la technologie d'analyse en flux (A. pompe péristaltique, B. pompe solénoïde, C. électrovanne à 3 vois, et D. pompe multi-seringue).	67
Figure 18. Cinétique de la formation de la trichloramine préparée avec un rapport molaire N :C = 1 :3,15 pendant 400 minutes. Solution mère diluée 100 fois.	79
Figure 19. Spectres d'absorption UV des standards de chloramines inorganiques préparées selon nos méthodes. A. MCA (1.5x10 ⁻³ M), B. DCA (1.2x10 ⁻³ M) et C. TCA (10 ⁻⁴ M)	81
Figure 20. Spectres d'absorption UV des standards d'espèces bromées réactives. A. HOBr (4x10 ⁻⁴ M), B. monobromamine (6.64x10 ⁻⁵ M), C. dibromamine (3.8x10 ⁻⁵ M) et D. tribromamine (5.83x10 ⁻⁵ M).	84
Figure 21. Microplaque noire (Perkin Elmer) à fond plat de volume interne 400 µL utilisée pour l'étude de la réaction de fluorescence.	86
Figure 22. Schéma descriptif général du système d'analyse chromatographique multi-seringues (MSC) pour l'analyse des chloramines inorganiques.	88

Figure 23. Chromatogrammes obtenus lors de la séparation du mélange MCA/DCA à 210 nm (à gauche) et TCA à 220 nm (à droite), en utilisant la colonne monolithique, phase mobile : acétonitrile 20% - Eau 80%, Débit 0,5 mL.min ⁻¹ , pression 5 bars.....	93
Figure 24. Cinétique de l'absorbance à 405nm de l'ABTS ^{o+} formé en fonction de l'acide ajouté. Expérience : 1 mL ABTS 250 µM + 1 mL acide + 1 mL DCA 10 ⁻⁵ mol (DCA).L ⁻¹ pendant 2 minutes.	97
Figure 25. Cinétique de l'absorbance à 405nm de l'ABTS ^{o+} en fonction de l'acide hydrochlorique de 0,2 à 1 M. Expérience :1 mL ABTS 250 µM + 1 mL acide + 1 mL DCA 10 ⁻⁵ mol (DCA).L ⁻¹	98
Figure 26. Cinétique de réaction entre le chlore libre, les chloramines inorganiques et l'ABTS en présence de HCl 0,8 M. Conditions opératoires : 1 mL ABTS 250 µM + 1 mL HCl 0,8 M + 1 mL échantillon à 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹	99
Figure 27. Cinétique de réaction entre le chlore libre, la MCA à 10 ⁻⁵ M et l'ABTS (250 µM) en présence de tampon phosphate (10 mM) à pH 3. Conditions expérimentales : 1 mL ABTS 250 µM + 1 mL Tampon + 1 mL composé à 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ , avec le blanc : eau ultrapure).	101
Figure 28. Réaction entre l'ammonium et l'OPA en présence de l'acide thioglycolique.	102
Figure 29. Intensités de fluorescence obtenues lors de la réaction entre l'eau (Blanc) , NH ₄ ⁺ (5.10 ⁻⁵ M), MCA (5.10 ⁻⁵ M), DCA (5.10 ⁻⁵ M) et mélange DCA (10 ⁻⁵ M) /TCA (9.10 ⁻⁵ M) avec l'OPA/Thiol 10 mM en présence du tampon phosphate 0,01 M pH 11,6. Conditions opératoires : 100 µL OPA/Thiol +50 µL échantillon, λ(Ex) 415nm et λ(Em) 485nm.	104
Figure 30. Intensités de fluorescence obtenues lors de l'optimisation de la réaction entre OPA/Thiol 30 mM (1 :1) et MCA (5.10 ⁻⁵ M) en utilisant le tampon phosphate 0,01 M pH 7 à 12. Blanc : eau ultrapure. Conditions expérimentales : 100 µL OPA/Thiol + 50 µL échantillon, λ(Ex) 415nm et λ(Em) 485nm.	105
Figure 31. Intensités de fluorescence obtenues lors de l'optimisation de la réaction entre OPA/Thiol 30mM (1 :1) et MCA (5.10 ⁻⁵ M) en utilisant différents tampons à différents pH. B : Tampon borate 0,01 M, P : Tampon phosphate 0,01 M et DP : Tampon diphosphate 0,01 M. Conditions expérimentales : 100 µL OPA/Thiol + 50 µL échantillon.	106
Figure 32. Intensités de fluorescence obtenues lors de l'optimisation de la réaction avec MCA (5.10 ⁻⁵ M) en fonction de la concentration de l'OPA et de l'acide thioglycolique (unité de la concentration en mM). Expérience : 100 µL OPA/Thiol + 50 µL échantillon.....	107
Figure 33. Schéma descriptif du système d'analyse chromatographique à basse pression sans réaction post-colonne.....	108
Figure 34. Chromatogrammes obtenus lors de l'analyse des solutions de chloramines inorganiques avec le système MSC. Phase mobile (MeCN 20%-Eau 80%), solution monodichloramine à gauche et partie de la solution TCA à droite représentant le pic de TCA seulement.	114
Figure 35. Concentration du chlore résiduel obtenu après 30 minutes de la réaction de chloration de la Glycine en fonction du rapport massique (Cl) : (N). A. Dosage titrimétrique DPD/FAS, B. Système MSC avec ABTS.	120
Figure 36. Cinétique de la réaction entre les espèces de chloramines et de bromamines inorganiques et l'ABTS en présence du tampon phosphate pH 3. (Conditions expérimentales : 1 mL ABTS 250 µM + 1 mL Tampon phosphate pH 3 + 1 mL échantillon 10 ⁻⁵ M).....	126
Figure 37. Cinétique de la réaction entre le chlore libre, les bromamines inorganiques et l'ABTS en présence du tampon phosphate pH 7. (Expérience : 1 mL ABTS 250 µM + 1 mL Tampon phosphate pH 7 + 1 mL échantillon 10 ⁻⁵ M).....	127

Figure 38. Cinétiques des réactions entre les espèces du brome résiduel et l'ABTS en présence du tampon MES 0,1 M pH 7. $[BrO^-] = 4,65 \times 10^{-5} M$, $[NH_2Br] = 3,8 \times 10^{-5} M$, $[NHBr_2] = 5,83 \times 10^{-5} M$ et $[NBr_3] = 4,65 \times 10^{-5} M$ ($M = \text{mol eq}(Br_2).L^{-1}$).....	128
Figure 39. Influence des paramètres sur la réponse en fluorescence avec le chloroforme $CHCl_3$ (20 $mg.L^{-1}$). Expérience : 200 μL pyridine dans DMSO + 10 μL NaOH + X μL échantillon.	140
Figure 40. Influence des paramètres sur la réponse en fluorescence avec le bromoforme $CHBr_3$ (20 $mg.L^{-1}$). Expérience : 200 μL pyridine dans DMSO + 10 μL NaOH + X μL échantillon.	140
Figure 41. Intensité de fluorescence obtenue pour chaque expérience (pourcentage de pyridine dans le DMSO fixé) en fonction de la concentration de NaOH (en $mol.L^{-1}$). Expérience : 200 μL pyridine dans DMSO + 10 μL NaOH + 30 μL échantillon $CHCl_3$ (100 $mg.L^{-1}$).....	141
Figure 42. Intensité de fluorescence obtenue en fonction du volume d'eau ajouté (en μL). Expérience : 200 μL pyridine 30% DMSO + 10 μL NaOH 1 $mol.L^{-1}$ + x μL Eau + 20 μL échantillon ($CHCl_3$ 100 $mg.L^{-1}$).	142
Figure 43. Intensité de fluorescence obtenue en fonction du sens de l'ajout des réactifs optimisés. Expériences effectuées en utilisant les conditions suivantes : 200 μL pyridine 30% dans DMSO, 10 μL de NaOH 0,5M, et 30 μL $CHCl_3$ (100 $mg.L^{-1}$).	143
Figure 44. Structures chimiques des dérivés de pyridine testés pour la réaction de Fujiwara.144	
Figure 45. Influence des différents paramètres sur la réaction avec le $CHCl_3$ (10 $mg.L^{-1}$) préparé et dilué dans le DMSO. Expérience : échantillon dans DMSO + pyridine + soude + eau.	146
Figure 46. Influence des différents paramètres sur la réaction avec le $CHBr_3$ (10 $mg.L^{-1}$) préparé et dilué dans le DMSO. Expérience : échantillon dans DMSO + pyridine + soude + eau.	146
Figure 47. Influence du volume de pyridine sur la réaction de Fujiwara dans DMSO. Expérience : 150 μL échantillon (5 $mg.L^{-1}$) dans DMSO + volume de pyridine + 10 μL NaOH 0,5M.....	147
Figure 48. Influence du volume de la soude ajouté sur la réponse fluorescente de la réaction de Fujiwara dans DMSO. Expérience : 150 μL échantillon (5 $mg.L^{-1}$) dans DMSO + 50 μL pyridine pure + X μL NaOH.....	148
Figure 49. Influence de la concentration de la soude (M) sur la réponse fluorescente de la réaction Fujiwara dans DMSO. Expérience : 150 μL échantillon (5 $mg.L^{-1}$) dans DMSO + 50 μL pyridine pure + 40 μL NaOH (en M).	149
Figure 50. Influence du sens d'ajout des réactifs sur la réponse fluorescente.....	150
Figure 51. Comparaison de la réponse obtenue pour les quatre composés de THMs de concentration 1 $mg.L^{-1}$. Expérience : 150 μL échantillon dans DMSO + 60 μL pyridine + 40 μL NaOH 0,05 M, trois réplicats pour chaque expérience.	150
Figure 52. Schéma représentatif du module de diffusion gazeuse en PMMA (A) et du module imprimé en 3D (B) utilisés pour l'extraction des trihalométhanes avec une membrane.	153
Figure 53. Schéma descriptif des expériences effectuées avec les modules en utilisant la membrane.....	155
Figure 54. Facteur de préconcentration en fonction du débit des flux donneurs et accepteurs (de 0,1 à 0,5 $mL.min^{-1}$). Expérience : extraction via la membrane PTFE avec le module PMMA d'une solution $CHCl_3$ de 20 $mg.L^{-1}$	156
Figure 55. Facteur de préconcentration en fonction du nombre de couches de membrane en PTFE. Expérience : extraction via la membrane PTFE avec le module PMMA d'une solution $CHCl_3$ de 20 $mg.L^{-1}$ à débit 0,2 $mL.min^{-1}$ (identique pour les deux flux).....	157
Figure 56. Facteur de préconcentration d'un échantillon de $CHCl_3$ (1 $mg.L^{-1}$) en fonction du volume de l'échantillon pompé à l'étape 2 à débit 0,5 $mL.min^{-1}$	159

Figure 57. Schéma représentatif du montage utilisé pour l'extraction des THMs via la cartouche SPE automatisé avec le logiciel Autoanalysis. Les THMs extraits sont analysés dans cette partie manuellement avec la microplaque.	161
Figure 58. Photographie du montage représentant la partie de l'extraction de THMs via le cartouche (SPE).	161
Figure 59. Pourcentage de chloroforme élué dans les différentes fractions récupérées (150 μL par fraction). Expérience : extraction volume 10 mL de CHCl_3 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, élution avec 1 mL de DMSO au total. La somme des différentes fractions représente 100 % du chloroforme élué....	162
Figure 60. Comparaison du facteur de préconcentration en fonction du volume d'échantillon chargé sur la cartouche pour deux débits de percolation différents : D1 (vert) à 5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ et D2 (jaune) à 10 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	163
Figure 61. Comparaison de la réponse des THMs et HAAs par application du protocole SPE et mesure en microplaques de la fluorescence pour les fractions éluées (fraction de 150 μL , l'intensité maximale est indiquée sur le graphique). Expérience : volume d'échantillon de 20 mL, concentration 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, et débit 5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (étape 2 Tableau 37).....	164
Figure 62. Courbe d'étalonnage (la réponse fluorescente en fonction de la concentration en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Expérience : extraction du CHCl_3 entre 100 et 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (V 20 mL, D 0,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$).....	165
Figure 63. Schéma descriptif du système automatisé à développer pour analyser les THMs dans les eaux.....	166

Liste des Tableaux

Tableau 1. Propriétés chimiques et physiques des chloramines inorganiques.	32
Tableau 2. Propriétés chimiques et physiques des THMs, log K_{ow} : coefficient de partage octanol/eau.....	32
Tableau 3. Valeurs guides selon l’OMS pour l’eau de boisson [54]......	37
Tableau 4. Réglementations des eaux potables en France.	39
Tableau 5. Réglementations des eaux de piscine en France.....	39
Tableau 6. Réglementations des eaux destinées à la consommation humaine selon les législations du parlement européen.	40
Tableau 7. Réglementations des eaux destinés à la consommation humaine au Canada et en Amérique.....	41
Tableau 8. Réglementations des eaux de piscines dans certains pays.....	41
Tableau 9. Méthodes de type Berthelot utilisées avec extraction.	46
Tableau 10. Les méthodes proposées pour la différenciation entre les chlores et les bromes résiduels selon Sollo et al, 1971 [106]......	56
Tableau 11. Méthodes proposées pour la quantification du chlore libre, MCA, brome libre et bromamines selon Pinkernell et al, 2000 [83].	56
Tableau 12. Caractéristiques analytiques du système FIA pour le chlore total selon Saad et al, 2005 [163].	70
Tableau 13. Absorptivités molaires (en $M^{-1}.cm^{-1}$) des chloramines inorganiques selon Schreiber et al, 2005 [50].	80
Tableau 14. Absorptivités molaires (en $M^{-1}.cm^{-1}$) des bromamines inorganiques selon Lei et al, 2004 [19].	83
Tableau 15. Absorptivités molaires (en $M^{-1}.cm^{-1}$) de la MCA et de $NHBrCl$ selon Allard et al, 2018 [171].	84
Tableau 16. Paramètres obtenus (temps de rétention et résolution) en fonction de différentes phases mobiles testées lors l’optimisation de la séparation des chloramines inorganiques avec les deux colonnes à débit $1 mL.min^{-1}$, avec R : résolution entre le pic MCA et DCA.....	91
Tableau 17. Paramètres obtenus (temps de rétention en minutes et résolution) des chloramines inorganiques lors de l’optimisation de la composition de la phase mobile (MeCN-Eau), à débit : $0,5 mL.min^{-1}$, avec la colonne monolithique.	92
Tableau 18. Le potentiel standard des espèces chlorés et bromés actifs.....	94
Tableau 19. Rendement de conversion du chlore libre et des chloramines avec l’ABTS en fonction du pH du tampon phosphate (0,01 M). Expérience : 1 mL ABTS $250 \mu M$ + 1 mL Tampon 10 mM + 1 mL échantillon à $10^{-5} mol.L^{-1}$ pendant 2 minutes.....	96
Tableau 20. Optimisation de la réaction colorimétrique entre le chlore libre, la MCA à $10^{-5} M$ et l’ABTS $250 \mu M$ en présence de tampon phosphate (10 mM) à pH compris entre 2,8 et 3,4.....	100
Tableau 21. Caractéristiques analytiques de la séparation des chloramines inorganiques avec le système à basse pression sans réaction post-colonne.	109
Tableau 22. Influence du rapport des débits entre la phase mobile et le réactif. R : résolution entre MCA-DCA, débit en $mL.min^{-1}$, temps de rétention en minutes.	111
Tableau 23. Influence du débit et du volume du tuyau entre le mixeur et le détecteur. Débit en $mL.min^{-1}$, volume du tuyau en μL et temps de rétention en minutes.	112

Tableau 24. Protocole analytique avec le logiciel Autoanalysis pour le système MSC. Valve 1- Phase mobile, Valve 2- Réactif ABTS/Tampon, Valve-3 Réactif ABTS/HCl. (a) Débit de S1 (Phase mobile).....	113
Tableau 25. Caractéristiques analytiques du système MSC avec le réactif ABTS. (a) solution ABTS/HCl, (b) solution ABTS/Tampon, A= aire du pic, C= concentration de l'analyte ($\mu\text{g Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$).	115
Tableau 26. Protocole analytique avec le logiciel Autoanalysis pour le système MSC. Valve 1 : phase mobile, valve 2 : réactif OPA/Thiol.....	116
Tableau 27. Réponses fluorescentes obtenues en fonction du volume du tuyau utilisé entre le mixeur et le détecteur.	117
Tableau 28. Influence du rapport de débit entre la phase mobile et le réactif OPA/Thiol.	117
Tableau 29. Caractéristiques analytiques du système MSC avec le réactif OPA/Thiol. I= Intensité de fluorescence (u.a.) , C = concentration en $\mu\text{g Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$	118
Tableau 30. Analyse d'échantillons de piscine dopés avec des chloramines, unités en $\text{mg Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$	123
Tableau 31. Comparaison des deux méthodes d'analyse pour 5 différents échantillons d'eau de piscine, unité en $\text{mg Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$	124
Tableau 32. Conditions expérimentales proposées en présence de l'ABTS pour différencier les différentes espèces du chlore et du brome résiduel.....	129
Tableau 33. Caractéristiques analytiques concernant les espèces du chlore résiduel. A : absorbance, C : concentration.	130
Tableau 34. Caractéristiques analytiques concernant les espèces du brome résiduel. A : absorbance, C : concentration.	130
Tableau 35. Caractéristiques analytiques de la réaction de Fujiwara dans l'eau pour les 4 composés de THMs. Expérience : 200 μL pyridine 30% DMSO + 10 μL NaOH 0,5 M + 30 μL échantillon.....	145
Tableau 36. Caractéristiques analytiques de la réaction de Fujiwara dans le DMSO. Expériences : 150 μL échantillon dans DMSO (CHCl_3 de 0,1 à 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) + 60 μL pyridine + 40 μL NaOH 0,05 M.	151
Tableau 37. Comparaison de la réaction de Fujiwara entre les THMs et les HAAs. Expérience : 150 μL échantillon dans DMSO + 60 μL pyridine + 40 μL NaOH 0,05M.....	151
Tableau 38. Protocole en mode stop-flow utilisé pour l'extraction du CHCl_3 via la membrane silicone avec le module imprimé en 3D, programmé avec le logiciel Autoanalysis.	158
Tableau 39. Etapes de la méthode de l'extraction par SPE.	162
Tableau 40. Caractéristiques analytiques de la méthode de détection de THMs via l'extraction avec une cartouche SPE et l'application de la nouvelle méthode de Fujiwara/DMSO développée en fonction du volume de chargement à l'étape 2 de la méthode présentée dans le tableau 5. 165	

Liste des Abréviations

ABTS	Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
C₂Cl₄	Tétrachloroéthylène (Perchloroéthylène)
C₂HCl₃	Trichloroéthylène
CBr₃COOH	Acide tribromoacétique
CCl₃COOH	Acide trichloroacétique
CHBr₂Cl	Dibromochlorométhane
CHBr₃	Bromoforme
CHBrCl₂	Bromodichlorométhane
CHCl₃	Chloroforme
CMS	Echantillonnage par membrane capillaire
DCA	Dichloramine
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPD	N,N- diéthyl-p- phénylènediamine
DPD/FAS	Méthode standard titrimétrique
ECD	Détecteur à capture d'électrons
FIA	Analyse par injection en flux continu
GC	Chromatographie en phase gazeuse
GC-TRB	Colonne capillaire GC en polymère siloxane substitué avec 5% de groupement phényle.
HAAs	Acides haloacétiques
HALs	Haloacétaldéhydes
HANs	Haloacétonitriles
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
HS-GC	Chromatographie en phase gazeuse avec espace de tête
IT-SPME	Micro-extraction en phase solide
LD	Limite de détection
LLE	Extraction liquide-liquide
LQ	Limite de quantification

MCA	Monochloramine
MES	Acide 2-(N-morpholino) éthanosulfonique
MIMS	Spectrométrie de masse à introduction par membrane
MS	Spectrométrie de masse
MSC	Chromatographie Multi-seringue
MSFIA	Analyse en flux par injection multi-seringues
NBr₃	Tribromamine
NH₂Br	Monobromamine
NHBr₂	Dibromamine
NHBrCl	Bromochloramine
OMS	Organisation mondiale de la santé
OPA	<i>o</i> -phtalaldéhyde
PDMS	Matériaux polymériques hydrophobes de type polydiméthylsiloxane
PMMA	Polyméthacrylate de méthyle
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
RSD	Ecart-type relatif
SIA	Analyse par injection séquentielle
SPC	Sous- produit de chloration
SPD	Sous- produits de désinfection
SPE	Extraction sur phase solide
TCA	Trichloramine
THMs	Trihalométhanés
US-EPA	Agence de protection environnementale américaine
UV	Ultraviolet
Z-PETG	Filament de polyéthylène téréphtalate
Z-Ultra ABS	Filament d'acrylonitrile butadiène styrène

Introduction Générale

Introduction Générale

Le lien entre qualité de l'eau et santé est connu depuis de nombreux siècles, et dès 2000 ans avant notre ère, une étape de traitement de l'eau par exposition aux rayons du soleil suivie d'une étape de filtration sur charbon de bois, ou encore une étape de purification en faisant bouillir l'eau en présence d'une pièce de cuivre était recommandée. La découverte des microorganismes à la fin du XVII^{ème} siècle, puis celle de l'existence de bactéries pathogènes à la moitié du XIX^{ème} siècle (épidémie de choléra à Londres en 1854) ont imposé définitivement la désinfection de l'eau comme une étape indispensable pour contrôler et diminuer le nombre de maladies d'origine hydrique. Aujourd'hui encore, malgré l'état des connaissances et des progrès techniques, l'organisation mondiale de la santé estime que 80% des maladies qui affectent la population mondiale sont directement associés à la qualité de l'eau et que les eaux contaminées sont responsables de 50% des cas de mortalité infantile.

Plusieurs désinfectants peuvent être utilisés pour inactiver les microorganismes pathogènes à l'origine des maladies hydriques, comme par exemple le brome, l'ozone, l'acide peracétique, le permanganate de potassium, ou encore les Ultra-Violet, comme moyen physique d'élimination des microorganismes. Tous ces désinfectants ont des avantages et des inconvénients, mais le désinfectant le plus utilisé reste le chlore (sous forme liquide, solide ou gazeuse) grâce à son faible coût et à sa facilité d'utilisation.

Le chlore (et ses dérivés) s'est imposé dès les années 1800 comme un réactif simple à utiliser et efficace pour la désinfection de l'eau, et est aujourd'hui utilisée non seulement pour la production d'eau potable, mais également comme désinfectant résiduel dans les eaux de piscine, comme agent de lutte contre la prolifération et la dissémination de microorganismes dans les eaux de ballast des navires, ou encore comme agent anti-biofouling dans de nombreux procédés industriels (industries sidérurgique, pétrochimique, énergétique) utilisant de l'eau naturelle (douce ou marine) pour refroidir ou réchauffer les eaux de process.

Si l'efficacité bactéricide du chlore n'est plus à remettre en question, celui-ci présente néanmoins l'inconvénient de pouvoir former des sous-produits en présence de matières organiques naturelles ou anthropiques, composés chimiques potentiellement toxiques, irritants, et dangereux pour la santé, appelés sous-produits de désinfection. Ainsi, dans les eaux de piscines, le chlore peut réagir avec les substances apportées par les baigneurs (tissus de peau, urine, cheveux, sueur, poils, salive, produits cosmétiques...) ; dans le domaine des eaux potables ou celui des eaux industrielles ou des eaux de ballast, il peut réagir avec les substances humiques et autres matières organiques contenues dans la ressource considérée.

Plus de 600 sous-produits de désinfection ont été identifiés jusqu'à maintenant, comme les trihalométhanés, les chloramines inorganiques et organiques, les acides haloacétiques, les haloacétonitriles, parmi les plus recherchés. La toxicité de certains d'entre eux a été démontrée, notamment pour les trihalométhanés dont le chloroforme qui est classé comme cancérigène probable, ou les chloramines qui sont à l'origine d'irritations pulmonaires et d'odeurs (l'exposition à la trichloramine a notamment été classée comme maladie professionnelle pour les maîtres-nageurs).

L'analyse des sous-produits de désinfection en général, et des trihalométhanés et chloramines en particulier, représente un défi majeur. Des méthodes simples, sensibles et sélectives sont hautement désirables afin de pouvoir les utiliser comme outils d'analyse de routine pour quantifier ces composés, vérifier qu'ils ne dépassent pas les normes de qualité et pouvoir déterminer leurs effets sur la santé. Pour cela, les objectifs de ces travaux de recherche ont été les suivants :

- Proposer et développer un système automatisé pour la détermination sélective des chloramines inorganiques avec des limites de détection suffisamment basses pour pouvoir être utilisé pour des mesures sur échantillons réels (notamment eaux de piscine).
- Proposer et développer un système automatisé pour la détermination des trihalométhanés dans les eaux avec des limites de détection suffisamment basses pour respecter les critères de qualité d'analyse réglementaires de ces composés.
- Utiliser des techniques d'analyse en flux afin de disposer de systèmes d'analyse simples, robustes et abordables.

Ce mémoire comporte trois chapitres afin de répondre à ces objectifs :

Le CHAPITRE I présente une synthèse des données bibliographique relatives aux sous-produits de désinfection : les chloramines inorganiques, les bromamines inorganiques et les trihalométhanes, notamment leurs formations et spéciations, propriétés, toxicités et réglementations. Il propose également une présentation détaillée des méthodes utilisées pour la quantification de chaque espèce dans les eaux, ainsi qu'une partie de présentation des techniques d'analyse en flux utilisées dans le cadre de ces travaux de recherche.

Le CHAPITRE II présente le système développé pour analyser les chloramines inorganiques dans les eaux, en se basant sur l'utilisation de la chromatographie multi-seringue. La préparation des chloramines inorganiques est tout d'abord abordée, suivi des différentes étapes d'optimisation du système, jusqu'à l'analyse d'échantillons réels (eaux de piscine). Une méthode basée sur une mesure spectrophotométrique directe pour différencier les chloramines des bromamines et les différentes espèces réactives du chlore et du brome est également présentée.

Le CHAPITRE III présente enfin l'étude d'une nouvelle méthode d'analyse des trihalométhanes dans les eaux, en optimisant une méthode d'extraction/préconcentration des trihalométhanes sur phase solide, ainsi qu'en développant une nouvelle réaction de Fujiwara pour déterminer la concentration des trihalométhanes dans l'eau et dans le DMSO, sans besoin ni de chauffer ni de refroidir la réaction. Ce chapitre présente également le système d'analyse automatisé envisagé à partir de ces différentes étapes précédentes optimisées.

Enfin, ce manuscrit se termine par une conclusion générale, avec une présentation des perspectives offertes par ces travaux.

CHAPITRE I

État de l'art

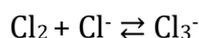
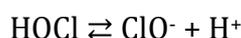
CHAPITRE I : État de l'art

I.1. Les sous-produits de désinfection dans les eaux

I.1.1. Généralités sur les sous-produits de désinfection

La désinfection de l'eau est une étape essentielle parmi les différentes étapes du traitement de l'eau (eaux potables, eaux de piscines, eaux de ballast ou eaux de process industriels), qui permet de réduire la présence des microorganismes pathogènes (bactéries, virus et protozoaires) [1,2] et donc de lutter contre les maladies d'origines hydriques, comme, par exemple pour les eaux potables, le choléra et la typhoïde qui ont causé de nombreux décès autrefois [3,4].

La chloration de l'eau est une des plus anciennes méthodes de désinfection de l'eau, mais reste la plus utilisée de nos jours grâce à son efficacité et à son faible coût [5]. Le chlore peut être utilisé sous forme de chlore gazeux (Cl_2 ou ClO_2), liquide (NaOCl), ou solide (Ca(OCl)_2) [6]. Le chlore gazeux s'hydrolyse dans l'eau en formant l'acide hypochloreux (HOCl) qui peut lui-même se dissocier partiellement en ions hypochlorite (ClO^-). Ce sont deux espèces qui désinfectent l'eau, l'acide hypochloreux étant toutefois 60 fois plus efficace que la forme hypochlorite, à un pH compris entre 4 et 6 (et à 20 °C). La réaction du chlore avec les ions chlorures conduit à la formation des ions trichlorures (Cl_3^-). L'ensemble de ces transformations est représenté par les réactions suivantes [7,8] :



Par conséquent, le terme chlore libre englobe les quatre formes chimiques suivantes : le chlore (Cl_2), l'acide hypochloreux (HOCl), les ions hypochlorites (ClO^-) et l'ion trichlorure (Cl_3^-). Les produits de la réaction du chlore libre avec les autres composés présents dans l'eau sont regroupés sous le terme de chlore combiné, et le chlore total représente la somme du chlore libre et du chlore combiné.

Afin d'obtenir une désinfection efficace en abattant la majorité des microorganismes pathogènes et en réduisant les risques de reviviscence de ces microorganismes, il est nécessaire de maintenir un niveau minimum de chlore libre dans l'eau appelé chlore résiduel libre. En France cette concentration doit être comprise entre 0,2 et 0,5 mg.L⁻¹ à la sortie des usines de production des eaux destinées à la consommation humaine et supérieure à 0,1 mg.L⁻¹ en tout point du réseau de distribution, et entre 0,4 et 1,4 mg.L⁻¹ dans les eaux de piscines selon la réglementation nationale [1].

Cependant, en présence des matières organiques d'origine naturelle ou anthropique, le chlore ajouté dans l'eau peut former des dérivés chlorés potentiellement dangereux qu'on regroupe sous le terme générique de sous-produits de désinfection (SPD) [9]. Ainsi, de nombreux SPD sont retrouvés dans les eaux de piscine chlorées où les matières organiques peuvent être apportées d'une manière continue par les baigneurs par l'urine, la sueur, les produits cosmétiques et d'autres. Dès la découverte de la formation des sous-produits de chloration (SPC) en 1970 et jusqu'à maintenant, plus de 600 SPD ont été identifiés, tels que les haloamines, les N-nitrosamines, les trihalométhanes (THMs), les acides haloacétiques (HAAs), les haloacétaldéhydes (HALs), les haloacétonitriles (HANs), les halocétones, ou les haloamides, d'autres n'étant pas encore identifiés à ce jour [10,11].

Les SPD sont considérés comme des contaminants présents dans les eaux potables et les eaux de piscines, comme l'ont montré plusieurs travaux de recherche effectués pour étudier les effets de certains de ces SPD sur la santé humaine. La plupart des études a prouvé des relations entre la présence de ces composés et les risques liés aux maladies reprotoxiques, génotoxiques, neurotoxiques, mutagènes et carcinogènes [11,12].

I.1.2. Formation et spéciation

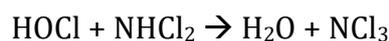
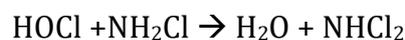
I.1.2.1. Les chloramines et bromamines inorganiques

Parmi le chlore combiné, les principaux composés retrouvés sont les chloramines organiques et inorganiques. Les chloramines inorganiques sont formées lors de l'ajout du chlore libre dans de l'eau contenant de l'ammoniaque (ou des substances susceptibles de former de l'ammoniaque), substance présente naturellement dans les eaux de surface, de

rivière, de mer et de pluie sous deux formes moléculaire et ionique (NH_3 et NH_4^+) [13,14]. Les chloramines organiques sont formées lors de la réaction entre le chlore libre en phase aqueuse et les composés organiques azotés d'origine naturelle ou anthropique dans les eaux [15].

Les chloramines inorganiques sont des composés oxydants, des amines qui contiennent au moins un atome de chlore lié directement à l'atome d'azote. Il existe trois formes de chloramines inorganiques qui peuvent se former dans l'eau : la monochloramine (NH_2Cl , MCA), la dichloramine (NHCl_2 , DCA) et la trichloramine (NCl_3 , TCA)[15]. Les chloramines inorganiques possèdent un pouvoir désinfectant bien inférieur au chlore libre, ce qui explique que leur formation pose des problèmes par rapport à la désinfection de l'eau. La monochloramine est par contre utilisée comme agent désinfectant secondaire dans certains pays (notamment aux Etats-Unis, au Japon ou en Australie). En effet, bien que son pouvoir désinfectant soit moins important que celui du chlore, sa rémanence est plus longue dans les réseaux de distribution, elle produit en général moins de sous-produits de désinfection et ne donne pas de mauvais goût à l'eau comme le chlore peut le faire au contact de certaines canalisations. En France, son utilisation est autorisée pour le traitement des eaux de refroidissement mais interdite pour la désinfection des eaux destinées à la consommation humaine ou les eaux de piscine.

Les réactions entre le chlore et l'ammoniaque ont été largement étudiées, l'acide hypochloreux réagit avec l'ammoniaque pour former la monochloramine qui conduit à la formation de la dichloramine puis à celle de la trichloramine en présence d'excès de chlore, selon les équations suivantes [16]:



La spéciation des chloramines inorganiques est influencée par plusieurs paramètres. Les deux facteurs ayant le plus d'influence sont le pH de la solution aqueuse et le rapport molaire azote (N) : chlore (Cl) c'est-à-dire le ratio concentration de l'azote total/ concentration du chlore total [14].

La valeur du pH peut orienter l'espèce de chloramine formée lors de la réaction entre l'ammoniaque et le chlore libre, car chaque espèce prédomine dans un domaine de pH déterminé ($pK_a(\text{HOCl}/\text{ClO}^-)=7,50$) : la monochloramine prédomine à un pH basique ($\text{pH}>7$), inversement à la trichloramine qui se forme majoritairement à pH acide ($\text{pH}<3$) [14], alors que le maximum du potentiel de formation de la dichloramine se situe à un pH compris entre 4 et 5 comme montré dans la Figure 1.

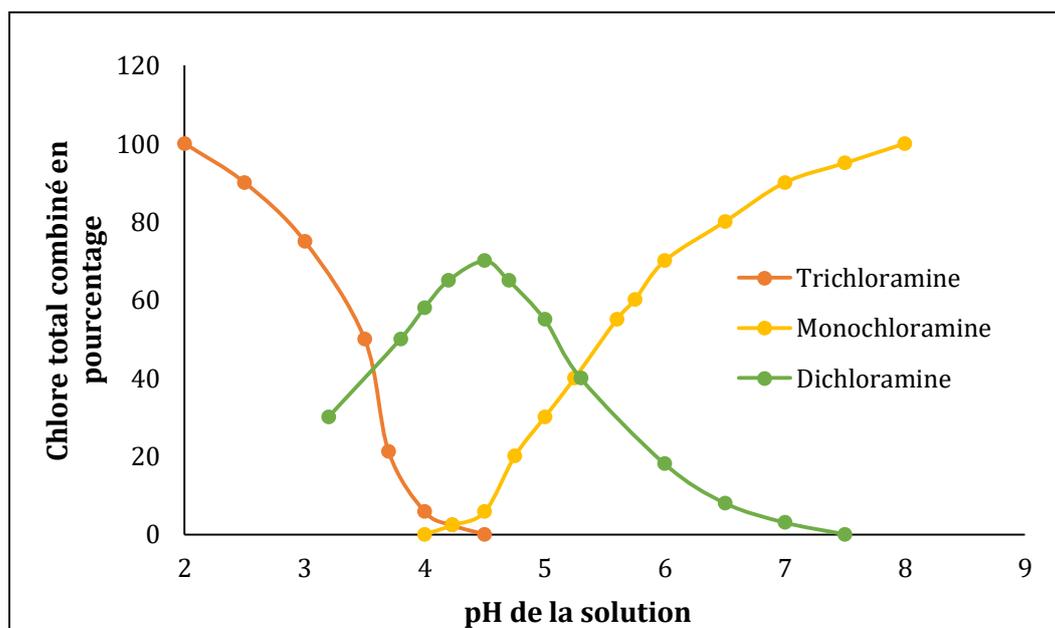


Figure 1. Influence du pH sur la formation des chloramines inorganiques dans l'eau, pour un rapport N/Cl=1.

Par ailleurs, le tracé de la courbe du point de rupture (« Break-point ») permet de modéliser les réactions entre le chlore et l'azote ammoniacal [17]. Cette courbe présente la concentration en chlore résiduel total en fonction de la dose de chlore libre ajouté dans une eau naturelle en présence d'azote ammoniacal.

Cette courbe (Figure 2) peut être décomposée en quatre zones : la première zone (A) présente la consommation initiale en chlore, suivie par la zone (B) qui présente la formation du chlore combiné (notamment la monochloramine) résultant de la réaction entre le chlore et l'ammoniaque (pour un rapport molaire (N):(Cl)>1). Ensuite, l'ajout complémentaire de chlore (pour un rapport molaire (N):(Cl) compris entre 1 et 0,7) dans la zone (C) conduit à la destruction du chlore combiné en passant par l'étape de la formation et la décomposition de la dichloramine jusqu'au point de rupture où le rapport molaire (N):(Cl) se situe autour de 0,66. Après ce point, le chlore ajouté s'accumule dans

la zone (D) sous forme de chlore libre, en présence d'une quantité de chlore combiné sous forme de trichloramine.

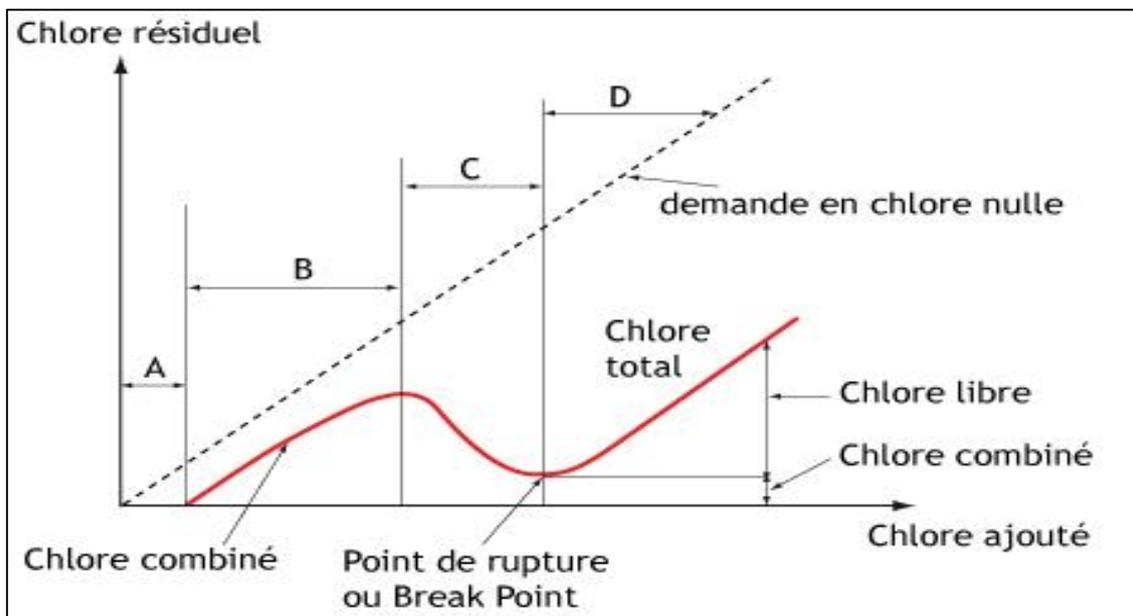
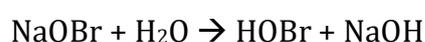
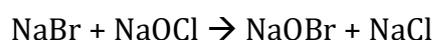


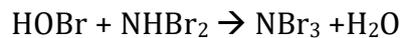
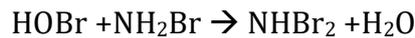
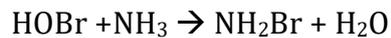
Figure 2. Courbe du point de rupture (Break point) dans l'eau naturelle selon Doré, 1989 [17].

Le brome (Br_2) et l'acide hypobromeux (HOBr) ont été proposés pour remplacer le chlore libre afin de désinfecter l'eau (eaux potables, eaux de piscines, eaux usées et eaux de refroidissement), principalement à cause du fort pouvoir désinfectant des bromamines correspondantes, pratiquement égal à celui du chlore et du brome libre, permettant d'éliminer plusieurs agents pathogènes grâce à ses propriétés chimiques et bactéricides [18]. Un des inconvénients majeurs du brome et des bromamines réside par contre dans la formation de sous-produits de désinfection bromés potentiellement plus toxiques que leurs équivalents chlorés [19].

En absence d'ammoniaque, le brome (Br_2) comme le chlore peut se dissocier dans l'eau en fonction du pH et de la température ; il peut présenter sous ces trois formes : HOBr , OBr^- et Br_3^- . L'ajout de bromure de sodium en présence de chlore pour passer de l'acide hypochloreux à l'acide hypobromeux a été la méthode alternative à la chloration de l'eau proposée afin de désinfecter l'eau [20] selon les équations suivantes :



L'acide hypobromeux est un acide faible, c'est le composé le plus actif dans la désinfection et son pK_a est de 8,69. Du fait de son pK_a plus élevé que l'acide hypochloreux, il sera plus actif (forme protonée) dans les eaux naturelles dont le pH est généralement compris entre 6,5 et 8. Cependant, il peut réagir rapidement avec l'ammoniaque dans l'eau pour former des bromamines inorganiques selon les équations suivantes [21] :



Les bromamines inorganiques sont moins stables que les chloramines inorganiques [21], et la spéciation de ces composés dépend du pH, de la concentration de brome et de l'ammoniaque dans l'eau, et de la température. Un diagramme de prédominance des bromamines inorganiques en fonction du pH et du rapport molaire (N) : (Br) permet de prédire les espèces attendues en fonction des caractéristiques chimiques de la solution étudiée (Figure 3). Par rapport aux chloramines, la dibromamine prédominera jusqu'à des pH plus élevés par rapport à la monobromamine et pourra être présente même dans des milieux naturels où l'azote sera en fort excès par rapport au brome (là où la monochloramine sera seule présente dans le cas du chlore).

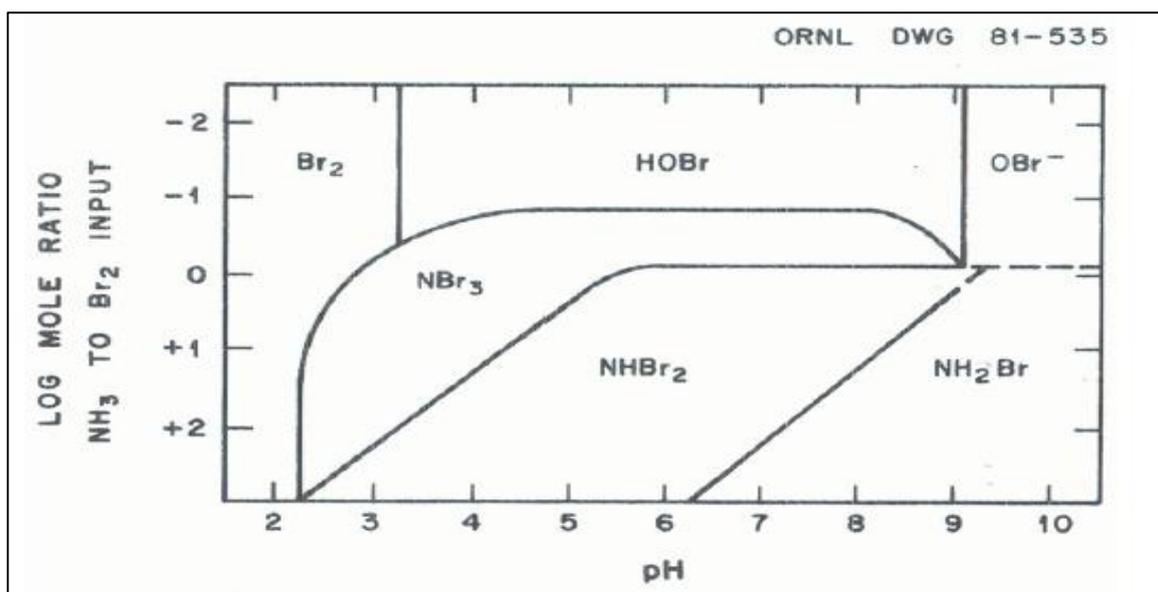
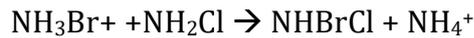
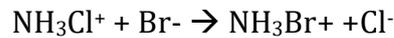
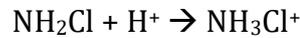


Figure 3. Diagramme d'existences des espèces bromées et des bromamines selon Soulard et al, 1984 [22].

En outre, un composé formé de mélange de chlore et brome, la bromochloramine (NHBrCl), peut se former dans les eaux lors de la présence de la monochloramine et du brome libre dans l'eau, comme indiqué dans les équations suivantes [23,24] :



Une autre étude a montré le rôle de mécanismes additionnels pour la formation de ce composé dans l'eau (Figure 4) :

- (i) Par dissociation de la monochloramine en chlore libre pouvant réagir avec les ions bromures en formant du brome libre (HOBr), ce dernier réagissant de nouveau avec l'ammoniaque (NH₃) pour former la bromochloramine (NHBrCl), avec HA signifie un acide général.
- (ii) Par réaction entre le chlore libre (HOCl) et les ions bromures (Br⁻) formant le BrCl pouvant se décomposer en Br₂ et Br₃⁻ et réagir en présence de monochloramine pour former la bromochloramine [25].

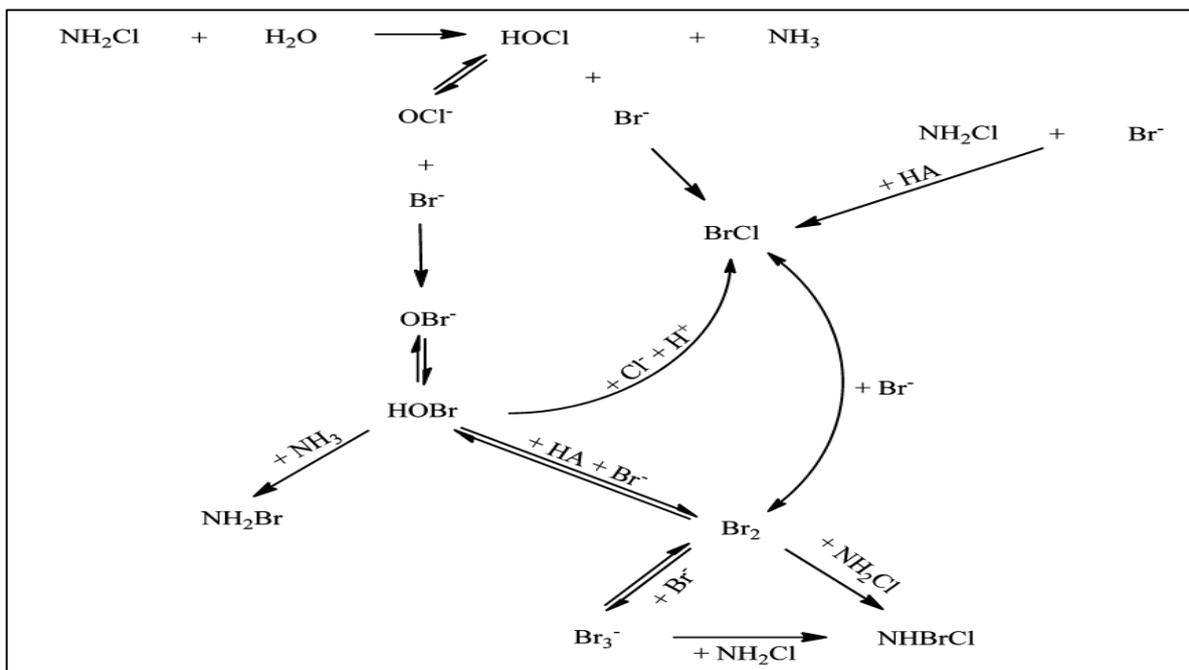


Figure 4. Schéma présentant les mécanismes de la formation de la bromochloramine selon Luh et al, 2012 [25].

I.1.2.2. Les Trihalométhanes

Les trihalométhanes (THMs) font partie des sous-produits de désinfection formés lors de la désinfection de l'eau. Ce sont des composés organiques volatils et semi-volatils formés d'un seul carbone dont les atomes d'hydrogène sont substitués par des halogènes, correspondant à la formule CHX_3 avec X pouvant être du chlore (Cl), du brome (Br), du fluor (F) ou de l'iode (I). Quatre composés des trihalométhanes sont les plus fréquemment détectés après chloration d'une eau naturelle : le chloroforme ou trichlorométhane (CHCl_3 , TCM), le bromoforme ou tribromométhane (CHBr_3 , TBM), le bromodichlorométhane (CHCl_2Br , BDCM) et le dibromochlorométhane (CHClBr_2 , DBCM) [26].

Les THMs se forment par réaction entre le chlore (acide hypochloreux dans l'eau) et la matière organique naturelle présente dans les eaux (précurseurs de formation des THMs), notamment les acides humiques et les acides fulviques [27]. Les THMs bromés sont formés principalement quand le chlore ajouté réagit avec les ions bromures présents naturellement pour former de l'acide hypobromeux, ou bien quand l'acide hypobromeux est utilisé comme agent de désinfection. Ces transformations sont représentées par les réactions suivantes :



La spéciation des trihalométhanes dans l'eau dépend de plusieurs paramètres : la concentration des précurseurs en trihalométhanes (matières organiques), la dose de désinfectant utilisé, la quantité résiduelle de chlore et de brome dans l'eau après la désinfection, le pH et la température.

Plusieurs études ont été effectuées pour quantifier la concentration des trihalométhanes dans les eaux. Le chloroforme est le THM le plus fréquemment détecté dans les eaux chlorées, sa concentration diminuant proportionnellement avec la concentration d'ions bromures. L'ordre en concentrations des THMs est en général : chloroforme >

bromodichlorométhane > dibromochlorométhane > bromoforme [28]. Le bromoforme prédomine dans les piscines utilisant de l'eau de mer (fortes concentrations en ions bromures) ou lorsque le désinfectant utilisé est le brome, suivi par la présence du bromodichlorométhane, et du dibromochlorométhane [11]. En outre, dans les eaux de piscines, en particulier les piscines couvertes (Indoor), deux facteurs peuvent renforcer la volatilité de ces composés entre l'eau et l'air : la concentration des trihalométhanes formés dans l'eau, l'agitation de l'eau et la température. La connaissance de la formation des THMs dans l'eau est donc très importante pour connaître l'impact sanitaire de ces composés.

I.1.3. Propriétés chimiques et physiques

Chaque type de sous-produits de désinfection possèdent des propriétés chimiques et physiques différentes. Les trois chloramines inorganiques sont de même nature chimique mais possèdent des propriétés chimiques et physiques très différentes. La monochloramine et la dichloramine sont par exemple très solubles dans l'eau, alors que la trichloramine est la plus volatile.

Le Tableau 1 présente les propriétés chimiques et physiques des chloramines inorganiques [16, 22, 24, 29] :

Propriétés	Monochloramine	Dichloramine	Trichloramine
Masse molaire (g.mol ⁻¹)	51,48	85,92	120,36
Domaine de pH	>8	3,5-6	1-3
Solubilité	Soluble	Soluble	Soluble
Constante d'Henry - H ^{cc} sans dimensions à 25 °C	4,7 x10 ⁻⁴	1,4 x10 ⁻³	0,41
Réactions	NH ₂ Cl + 2e ⁻ + 2H ⁺ ⇌ Cl ⁻ + NH ₄ ⁺	NHCl ₂ + 4e ⁻ + 3H ⁺ ⇌ 2Cl ⁻ + NH ₄ ⁺	NCl ₃ + 6e ⁻ + 4H ⁺ ⇌ 3Cl ⁻ + NH ₄ ⁺
E°/v (ESH)	1,527	1,428	1,407

Tableau 1. Propriétés chimiques et physiques des chloramines inorganiques.

Les quatre trihalométhanes sont faiblement hydrosolubles à température ambiante et leurs constantes de Henry montrent que ces composés sont plus ou moins volatils en fonction du nombre d'atomes de brome dans leur structure (Tableau 2) [30, 31, 32, 33, 34, 35, 36,37].

Propriétés	CHCl ₃	CHBrCl ₂	CHBr ₂ Cl	CHBr ₃
Masse molaire (g.mol ⁻¹)	119,376	168,823	208,77	252,8
Point d'ébullition	61,3	90	121,3	149
Solubilité (eau) à 25°C (g.L ⁻¹)	7,95	2,70	3,03	3,10
Log K _{ow}	1,97	2	2,16	2,38
pK _a	13,6	12,9	12,3	13,7
Constante d'Henry - H ^{cc} sans dimensions à 25 °C	0,15	0,0656	0,0321	0,0219

Tableau 2. Propriétés chimiques et physiques des THMs, log K_{ow} : coefficient de partage octanol/eau.

I.1.4. Toxicité et risques sanitaires

I.1.4.1. Effets sur la santé

Le nombre de maladies causées par la consommation de l'eau non traitée a été diminué dès l'introduction de la désinfection de l'eau. Mais depuis la découverte de la formation des sous-produits de désinfection (1974), de nombreuses recherches ont été effectuées sur l'identification et la quantification de ces composés ainsi que sur les effets de ces composés sur la santé. La formation des sous-produits de désinfection est un processus complexe dépendant de plusieurs facteurs : les concentrations en précurseurs organiques naturels ou anthropiques, la concentration en chlore initial et résiduel après le traitement, le temps de contact, la température, le pH de l'eau ou bien encore la concentration en ions bromure [38]. Malgré tous ces paramètres, la plupart des études montre que les trihalométhanes et les acides haloacétiques sont en général les sous-produits en concentration les plus élevées qui se forment dans les eaux désinfectées, ainsi que les chloramines inorganiques comme la trichloramine dans les eaux de piscine [11]. En conséquence, plusieurs recherches ont essayé de caractériser les effets de l'exposition chronique aux sous-produits de désinfection notamment la trichloramine et les quatre trihalométhanes.

L'homme peut être exposé aux sous-produits de désinfection soit par ingestion des eaux potables désinfectées ou par la préparation des aliments, soit par inhalation à cause de la volatilité de ces composés durant les bains, les douches ou dans les eaux de piscines, soit par absorption cutanée.

La toxicité de ces composés et les effets sur la santé dépendent de plusieurs facteurs : la durée de l'exposition, les voies d'exposition ou la quantité absorbée par le corps humain. De nombreux sous-produits de désinfection sont également bio-accumulatifs et ils peuvent donc s'accumuler dans les tissus du corps humain. Les résultats de la toxicité des sous-produits de désinfection se divisent en deux groupes : les composés qui peuvent être cancérigènes et les composés qui peuvent avoir des effets sur la reproduction et le développement.

En ce qui concerne les haloamines, la monochloramine n'est pas classée comme cancérigène par le centre international de recherche sur le cancer ni par l'agence de protection environnementale américaine (US.EPA), alors que les études sur les autres chloramines inorganiques (en particulier la trichloramine qui est le composé le plus étudié dans les eaux de piscines couvertes) ont montré que l'exposition à ce composé pour une longue durée ou pour des concentrations élevées peut conduire à des effets toxiques. On peut citer les irritations des yeux, du nez, ou de la gorge lorsque le taux de trichloramine dépasse 0.3 mg.m^{-3} dans l'air, ainsi que des problèmes respiratoires comme l'apparition de l'asthme reconnue comme maladie professionnelle notamment chez les maîtres-nageurs [39]. D'autres études ont également montré la relation entre l'exposition à la trichloramine et les effets pulmonaires [40]. En outre, la trichloramine est une substance connue pour avoir un potentiel effet clastogène, c'est-à-dire de pouvoir changer la structure des chromosomes [41].

Parmi les sous-produits retrouvés dans les eaux désinfectés par le chlore, les trihalométhanes sont ceux qui sont détectés dans les concentrations les plus élevées (en dehors des chloramines inorganiques dans certains cas). Le chloroforme est notamment le composé le plus volatil de ces composés, et il peut pénétrer dans l'organisme par inhalation, avec une absorption pulmonaire estimée autour de 80%, et ensuite être distribué dans l'organisme par la circulation sanguine [42, 43]. Les symptômes observés après l'ingestion ou l'inhalation des trihalométhanes sont : arythmie cardiaque, problèmes respiratoires, hypotension, nausées et vomissement [44]. Les organes ciblés par l'exposition aux trihalométhanes (notamment le chloroforme) sont les reins, la thyroïde, le foie, les poumons, le système nerveux et l'épithélium nasal, ces organes sont également les sites majoritaires de la métabolisation du chloroforme [45].

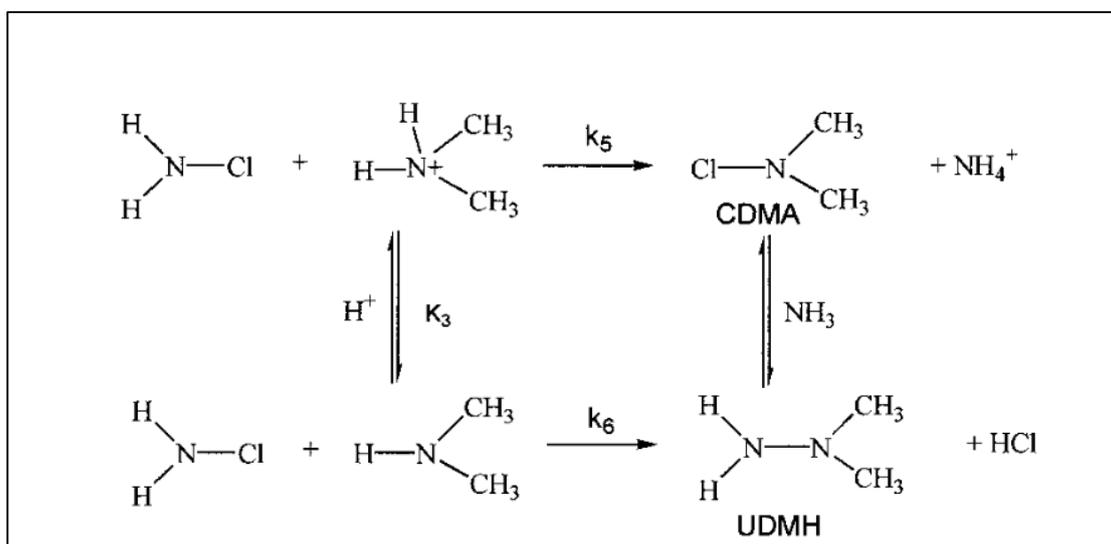
En outre, l'agence internationale de recherche sur le cancer (AIRC) a classifié le chloroforme et le bromodichlorométhane dans la catégorie 2B (cancérigène possible pour l'homme, car preuves suffisantes de cancérogénicité sur les animaux de laboratoire), et le dibromochlorométhane et le bromoforme dans la catégorie 3 (ne peut pas être classé comme cancérigène pour l'homme, indications insuffisantes chez l'homme et insuffisantes ou limitées sur les animaux de laboratoire) [1, 46, 47].

Enfin, la formation de plusieurs sous-produits de désinfection dans les eaux conduit à être potentiellement exposé à une combinaison de ces composés simultanément. Les recherches ont démontré la relation entre l'exposition longue durée à un mélange des sous-produits de désinfection et l'augmentation du risque de déclencher un cancer de la vessie, du rectum, ou de l'intestin [4, 48].

I.1.4.2. Risques comme précurseurs de composés toxiques

Dès la découverte de la formation des sous-produits de désinfection toxiques et dangereux induites par les réactions entre le chlore utilisé pour la désinfection et les matières organiques présentes dans l'eau, de nouvelles méthodes de désinfection ont été proposées afin de réduire leur formation notamment le remplacement du chlore libre par la monochloramine. Par la suite, les recherches sur les sous-produits de désinfection azotées (N-nitrosamines, halogénures de cyanogène, haloacétonitriles, haloacétamides ou halonitrométhanés) ont montré une relation entre la chloramination (ou la formation des chloramines dans les eaux chlorées) et la formation de composés azotés dangereux comme le chlorure de cyanogène ou la N-nitrosodiméthylamine (NDMA) [23, 49].

La NDMA a été classée dans la catégorie 2A (probablement cancérigène pour l'homme) par l'AIRC [50], ce qui nécessite de connaître les paramètres qui conduisent à sa formation. Une des voies de formation proposée est liée à la réaction entre la monochloramine (NH_2Cl) et la diméthylamine (DMA) en formant l'intermédiaire diméthylhydrazine (UDMH) selon les réactions suivantes (Figure 5)[51] :



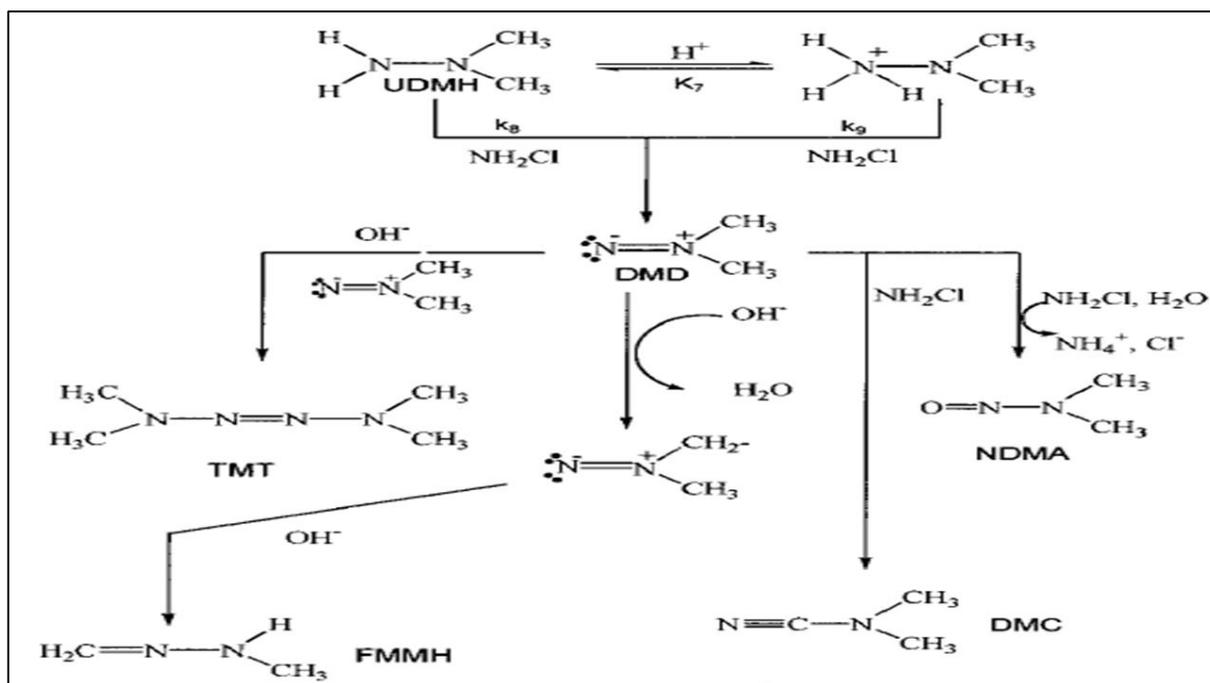


Figure 5. Réaction de la formation du NDMA à partir la monochloramine selon Mitch et al, 2002 [51].

D'autres précurseurs ont été étudiés comme la triméthylamine (TMA), le N, N-diméthylisopropylamine (DMiPA), le N, N-diméthylbenzylamine (DMBzA), le ranitidine (RNTD) ainsi que les N, N-diméthyle- α -arylamines en présence de monochloramine et de dichloramine en solution. Les résultats ont montré que la réaction entre la monochloramine et la ranitidine (RNTD) conduit également à la formation de NDMA dans les eaux. Cependant, d'autres études ont montré que la dichloramine (NHCl₂) conduisait également à la formation de la N-nitrosodiméthylamine (NDMA) par réaction avec la DMA ainsi qu'avec les précurseurs TMA, DMiPA et les N,N-diméthyl- α -arylamines, et de façon beaucoup plus importante que la monochloramine [49, 52]. Ces études ont ainsi montré que la réduction en quantité de la dichloramine dans la solution peut réduire la quantité de NDMA formé, et que tout paramètre qui conduit à la formation de la dichloramine dans l'eau peut également conduire à la formation de la NDMA, nécessitant des méthodes d'analyse performantes de la dichloramine [52].

En outre, des études ont montré le rôle du brome libre et de la bromochloramine dans la formation de la N-nitrosodiméthylamine (NDMA). La présence du brome libre conduit à la formation des bromamines, ces composés formés peuvent aussi réagir avec la DMA

pour former le NDMA [53], sachant que la bromochloramine peut former la NDMA résultant de la réaction entre ce composé et des amines secondaires ou tertiaires [23].

I.1.5. Réglementations

I.1.5.1. Valeurs guides de l’OMS

L’Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a publié depuis 1985 plusieurs recommandations concernant la qualité de l’eau de boisson et celle de l’eau à usage récréatif, en prenant en compte notamment la problématique de la formation de sous-produits de désinfection. Le Tableau 3 présente les valeurs guides de l’OMS concernant ces composés dans les eaux de boisson selon la quatrième édition du rapport de l’OMS 2017 [54].

Composés	Valeur guide OMS
Chlore	5 mg.L ⁻¹
Chlore combiné	0,2 mg.L ⁻¹
Bromate	10 µg.L ⁻¹
Monochloramine	3 mg.L ⁻¹
Dichloramine	-
Trichloramine	-
Chloroforme	200 µg.L ⁻¹
Bromodichlorométhane	60 µg.L ⁻¹
Dibromochlorométhane	100 µg.L ⁻¹
Bromoforme	100 µg.L ⁻¹

Tableau 3. Valeurs guides selon l’OMS pour l’eau de boisson [54].

Concernant la dichloramine et la trichloramine, le rapport indique que les données disponibles ne permettent pas la détermination d'une valeur guide. Cependant, pour la dichloramine une valeur entre 0,1 et 0,5 mg.L⁻¹ a été indiquée comme valeur faible ou acceptable pour l'estimation des effets organoleptiques, avec un seuil de détection par l'odeur et le goût de 0,13 et 0,15 mg.L⁻¹. Pour la trichloramine, le seuil de détection par l'odeur est de 0,02 mg.L⁻¹.

Concernant les eaux de piscine, le dernier rapport de l'OMS ne propose pas de valeurs guides pour les THMs, et il propose seulement une limitation du chlore combiné à 0,2 mg.L⁻¹ et de la trichloramine dans l'air à 0,5 mg.m⁻³ [55] (l'Anses recommande une limite à 0,3 mg.m⁻³ dans l'air pour la trichloramine, et une valeur limite de 20 µg.L⁻¹ pour les THMs).

I.1.5.2. Législations

La découverte des sous-produits de désinfection et de leurs dangers sanitaires ont imposé la fixation de limites de qualité dans les eaux par les différents pays. En outre, de nombreux pays ont adopté une réglementation pour les produits liés à la chloration des eaux, en se basant notamment sur les directives fixées par l'OMS. Quelques exemples de réglementation sont donnés dans cette partie, avec des valeurs pouvant être proches ou très différentes en fonction des paramètres.

I.1.5.2.1. La réglementation française

Dès 1964, la réglementation française concernant les eaux potables a été introduite par le biais de la première loi sur l'eau du 16 décembre 1964 relative au régime et à la répartition des eaux et à la lutte contre leur pollution. Le nombre de paramètres suivis pour décrire la qualité des eaux potables en France a été augmenté de 5 à 54 en 1980. Mais, les normes de qualités actuelles sont fixées par le code de la santé publique dans son annexe 13-I. Ces exigences sont fondées sur les évaluations menées par l'organisation mondiale de la santé (OMS).

Pour les eaux potables, la qualité de l'eau potable en France est encadrée par la directive européenne 98/83/CE du conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux

destinées à la consommation humaine, et est traduit au niveau législatif par l'Arrêté du 11 Janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine, qui fixe des limites et des références de qualité [56] (Tableau 4).

Composés	Valeurs limites
Chlore résiduel	Absence d'odeur ou de saveur désagréable et pas de changement anormal
Ammonium	0,1 mg.L ⁻¹
Trihalométhanes totaux	100 µg.L ⁻¹
Chloramines	-

Tableau 4. Réglementations des eaux potables en France.

En France, la MCA n'est pas autorisée comme désinfectant secondaire, ce qui explique l'absence de valeur limite dans la législation.

La qualité des eaux de piscines publiques ou privées en France est encadrée par : les articles L1332-1 à L1332-9, articles D1332-13 et annexe 13-6 du code de la santé publique, par la circulaire DGS/EA4/2010/289 du 27 juillet 2010 et par la circulaire DGS/EA4/65 du 22 février 2008 [57, 58].

Composés	Valeurs limites
Chlore actif	0,4-1,4 mg.L ⁻¹
Chlore combiné	Maximum : 0,6 mg.L ⁻¹
Chlore actif en présence d'acide isocyanurique	≥ 2 mg.L ⁻¹
pH	6,9-8
Trichloramine dans l'air	0,3 mg.m ⁻³
Trihalométhanes totaux	< 100 µg.L ⁻¹

Tableau 5. Réglementations des eaux de piscine en France.

La limite de qualité des eaux de piscines en France comme l'indique le Tableau 5, montre que le chlore actif sans stabilisant dans les eaux de piscines doit être compris entre 0,4 et 1,4 mg.L⁻¹. Concernant les chloramines, il n'y a pas de réglementation spécifique pour différencier chaque espèce alors que la limite totale des chloramines sous forme chlore combiné dans les eaux est fixée à 0,6 mg.L⁻¹. Pour la trichloramine, seule une valeur limite dans l'air est fixée (0,3 mg.m⁻³). En outre, la limite de la présence des trihalométhanes totaux dans les eaux de piscines doit être inférieure à 100 µg.L⁻¹.

I.1.5.2.2. La réglementation dans les autres pays européens et dans le monde

La directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine (JO L 330 du 5.12.1998, p. 32-54) a été votée par le parlement européen en 1998, et a fixé la limite en trihalométhanes à 100 µg.L⁻¹ sans fixer de valeurs pour la quantité de chlore libre ou des chloramines dans les eaux potables [59]. Plusieurs mises à jour ont été effectuées en 2015 et 2018 [60]. Le Tableau 6 présente la nouvelle proposition relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine depuis Février 2018. En outre, les nouveaux paramètres ne contiennent pas de critères concernant le chlore libre ou les chloramines.

Composés	Valeurs limites
Chlorures (Cl⁻)	250 mg.L ⁻¹
Acides Haloacétiques	80 µg.L ⁻¹
Trihalométhanes totaux	100 µg.L ⁻¹

Tableau 6. Réglementations des eaux destinées à la consommation humaine selon les législations du parlement européen.

Des valeurs réglementaires pour les eaux potables concernant ces composés au Canada [61, 62] et aux Etats-Unis [63] sont présentées dans le Tableau 7, avec des valeurs proches de celle de l'Union Européenne pour les THMs :

	Chlore libre actif (mg.L⁻¹)	Chloramine (mg.L⁻¹)	THMs (µg.L⁻¹)
Canada	-	4	80
U.S.A.	-	4	80

Tableau 7. Réglementations des eaux destinés à la consommation humaine au Canada et en Amérique.

Concernant les eaux de piscine, il n'existe pas de réglementation de l'Union européenne relative à la qualité de l'eau des piscines. Il revient donc à chaque Etat Membre de fixer ses propres limites pour ce type d'eaux. Une synthèse a été effectuée en 2010 par l'Anses [35], un tableau récapitulatif sur les composés intéressants pour notre étude dans différents pays est donné ci-dessous (Tableau 8) [35, 64] :

	Chlore libre actif (mg.L⁻¹)	Trihalométhanes (mg.L⁻¹)	Chloramines (mg.L⁻¹)
France	0,4 - 1,4	0,1	< 0,6
Italie	0,7 - 1,5	-	0,4
Canada	0,8-2	-	0,5
Allemagne	0,3 - 0,6	0,02	0,2
Belgique	0,5 – 1,5	-	0,8-1
Suisse	0,2-0,4	0,03	0,2 – 0,3
Portugal	0,5 – 1,2	< 0,1	≤ 0,5
Danemark	-	0,1	-
Finlande	1,2	0,1	-
Royaume Uni	1-2	0,1	0,5

Tableau 8. Réglementations des eaux de piscines dans certains pays.

I.2. Les méthodes de quantification des chloramines et bromamines inorganiques et des trihalométhanes dans les eaux

Plusieurs méthodes et instrumentations ont été développées pour doser les sous-produits de désinfection dans les eaux, notamment pour les chloramines inorganiques et les trihalométhanes. Ces méthodes présentent des caractéristiques et des sensibilités variées selon les espèces à quantifier et selon la méthode utilisée. La partie suivante est divisée en deux grandes parties : la première partie présente les méthodes d'analyse et de quantification des chloramines (et bromamines) inorganiques et la deuxième partie présente les méthodes d'analyse des trihalométhanes dans les eaux.

I.2.1. Méthodes de quantification des chloramines inorganiques

La quantification des chloramines inorganiques dans les eaux a fait l'objet de nombreuses études depuis le début de l'utilisation de la désinfection par le chlore. On peut diviser ces méthodes en deux types : les méthodes non spécifiques (ou semi-spécifiques) qui sont basées sur des méthodes colorimétriques, titrimétriques ou ampérométriques, et les méthodes spécifiques basées sur la chromatographie et la spectrométrie de masse.

I.2.1.1. Les méthodes non spécifiques (ou semi-spécifiques)

Ces méthodes sont utilisées pour la quantification des chloramines. Elles reposent sur une réaction colorimétrique (réaction de dérivation) entre le chlore libre et/ou combiné et des réactifs spécifiques afin de former un produit détectable soit par titrage, soit par spectroscopie ultraviolet-visible [65] ou par spectroscopie de fluorescence [66].

I.2.1.1.1. Méthodes à la N, N-diéthyl-*p*-phénylènediamine (DPD)

Cette méthode est adaptée pour doser le chlore libre et les différentes espèces de chloramines inorganiques séparément (MCA, DCA et TCA) en ajoutant la quantité convenable d'iodure de potassium.

Pour la méthode titrimétrique, la N, N, -diéthyl-*p*-phénylènediamine (DPD) s'oxyde en radical semi-quinonique de couleur rosée, en présence de l'oxydant (le chlore libre ou combiné) que l'on peut doser avec un agent réducteur (le sulfate de fer et d'ammonium, FAS) dans un domaine de pH entre 6,2 et 6,5.

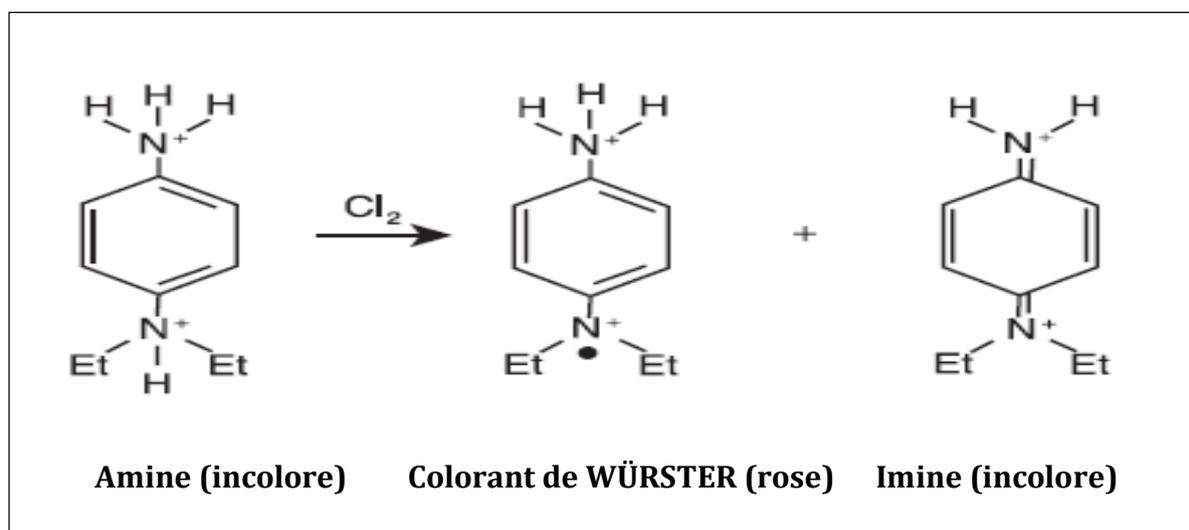


Figure 6. Réaction du chlore avec la DPD

Dans une solution contenant la DPD et le tampon phosphate à pH 6,5, le chlore réagit instantanément en absence de l'iode avec ce réactif en formant le composé coloré (Figure 6). Cette étape permet de doser le chlore libre avec le FAS directement, alors que l'ajout d'une petite quantité (0,5 mg) d'iodure de potassium dans la même solution de 100 mL permet de détecter la monochloramine. L'ajout d'un excès d'iodure de potassium (1 g) dans la même solution permet ensuite de doser la dichloramine dans la solution. Pour doser la trichloramine dans la solution, il faut une étape supplémentaire d'ajout d'iodure de potassium avant de mélanger cette solution avec le tampon et la DPD [67].

Une autre méthode peut être appliquée en utilisant le même réactif et un mode opératoire similaire, c'est la méthode spectrophotométrique par absorption moléculaire à la DPD. La coloration rosée obtenue est susceptible d'un dosage spectrophotométrique à 515 nm avec une cuve de 1 cm ou plus, dans un délai ne dépassant pas deux minutes [67].

Malgré la simplicité et les limites de quantification assez faibles de cette méthode (autour de 30 $\mu\text{g Cl}_2\cdot\text{L}^{-1}$), cette méthode est connue pour son manque de sélectivité. Lors de la quantification de la dichloramine après l'ajout d'un excès d'iodure de potassium, une

partie de la trichloramine peut être détectée sous forme de dichloramine. De plus, la présence des chloramines organiques dans la solution à doser conduit à des surestimations de la quantité réelle des chloramines inorganiques dans la solution, car les chloramines organiques réagissent avec la DPD à pH 6,2-6,5 en présence d'iodure comme les chloramines inorganiques, conduisant à de fréquentes surévaluations des chloramines inorganiques [68]. Ceci peut nuire au processus de désinfection, les chloramines organiques ne possédant pas le pouvoir désinfectant des chloramines inorganiques.

I.2.1.1.2. Méthode ampérométrique

Le dosage du chlore libre et du chlore combiné effectuée avec la méthode ampérométrique est basé sur la mesure de l'intensité de l'échantillon à l'aide d'électrodes. Les différentes formes de chlore (libre et combiné) sont dosées en réglant deux paramètres (le pH, et l'ajout ou non de l'iodure de potassium) : le chlore libre est mesuré en ajustant le pH à une valeur comprise entre 6,5 et 7,5 en l'absence d'iodure de potassium et le chlore combiné est dosé en ajustant le pH à une valeur comprise entre 3,5 et 4,5 en présence d'iodure de potassium. La solution d'oxyde de phénylarsine est utilisée pour titrer la solution, le courant conducteur qui traverse l'échantillon étant donc proportionnel à la concentration dans l'échantillon et décroît en présence d'un réducteur pour ce stabilisant dès que celui-ci est en excès. En revanche, la trichloramine est considérée comme interférent pour ce dosage [67, 69].

D'autres méthodes basées sur une méthode ampérométrique ou, de façon plus générale, sur une détection électrochimique, ont été développées. C'est le cas de l'appareil commercialisé sous le nom de Chlorosense par la société Palintest. Cette technique utilise une tension fixe appliquée à une électrode qui entraîne un courant proportionnel à la concentration de chlore dans l'échantillon à tester. Cette méthode peut mesurer le chlore libre et le chlore total simultanément [70].

I.2.1.1.3. Méthodes de dérivation chimique

Les méthodes de dérivation chimique sont utilisées afin de doser le chlore libre ou combiné, en utilisant un réactif spécifique. Les composés à doser réagissent avec ce réactif en formant un produit final dont la structure est spécifique au composé à doser (formation de nouvelles liaisons covalentes à partir de ce composé, au contraire des réactions rédox où un simple échange d'électrons est mis en jeu). Le produit final est en général détecté par spectrophotométrie dans le visible, la coloration dépendant directement de la concentration du produit de départ.

La réaction de Berthelot a été découverte et utilisée (1859) pour doser l'ammoniaque dans les eaux. Le procédé repose sur la transformation de l'ammoniaque en monochloramine par l'ajout de l'hypochlorite de sodium avant de passer à une étape de dérivation chimique avec le phénol [71, 72].

Par la suite, le phénol a été remplacé par d'autres substances non toxiques dérivées du phénol, comme le thymol ou le salicylate en présence de catalyseur [73]. La monochloramine réagit avec le thymol en présence du nitroprussiate de sodium $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ en formant une imine qui va réagir avec le thymol en produisant le produit final bleu (indothymol) comme indiqué dans la Figure 7, composé mesurable avec un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 675 nm.

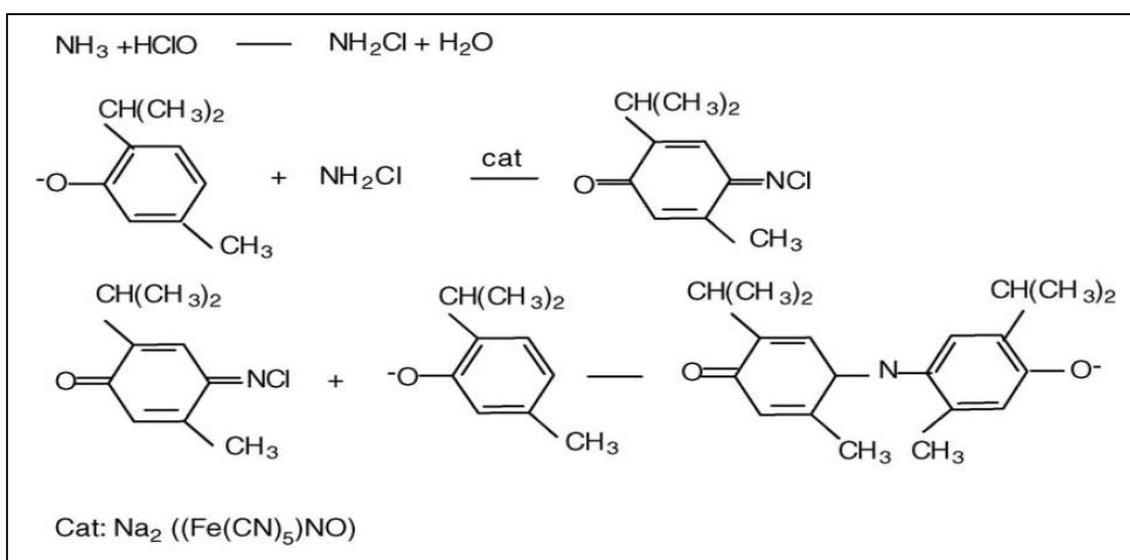


Figure 7. Mécanisme de la réaction de Berthelot selon Moliner-Martinez et al, 2004 [74].

Une autre méthode basée sur la même dérivation chimique a été utilisée afin de doser uniquement la monochloramine dans les eaux, c'est la méthode spectrophotométrique utilisant le salicylate et le même catalyseur – le nitroprussiate de sodium. La réaction avec ce réactif est très lente (60 minutes), et est basée sur la réaction entre la monochloramine et le salicylate en milieu basique à un pH 11,2 et en présence d'un catalyseur. Cette réaction conduit à la formation du bleu d'indophénol que l'on peut détecter par spectrophotométrie à $\lambda = 703$ nm. Concernant les deux autres chloramines inorganiques (DCA et TCA), elles ne réagissent qu'à environ 3% avec le salicylate, mais avec cette méthode il n'y a pas d'interférences avec les chloramines organiques car elles ne peuvent pas réagir avec le salicylate pour former le bleu d'indophénol [75]. La limite de détection avec cette méthode atteint $0,27 \text{ mg eq Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$.

Afin d'améliorer la limite de détection, plusieurs études ont été effectuées en utilisant l'extraction liquide-liquide (LLE), ou l'extraction sur phase solide (SPE). Le Tableau 9 résume les deux méthodes testées avec deux réactifs de Berthelot différents (Phénol et Thymol), ainsi que deux méthodes d'analyse du produit formé et extrait (Spectrophotométrie et GC-MS). En revanche, ces méthodes ne peuvent être utilisées que pour analyser la monochloramine dans les échantillons par dérivation chimique.

Réactif	Extraction	Méthode d'analyse	LD	Références
Phénol	SPE	GC-MS	$<1 \mu\text{mol/kg-N}$	[76]
Phénol	LLE	GS-MS	-	[77]
Thymol	SPE	Spectrophotométrie	$1 \mu\text{g/L NH}_3\text{-N}$	[78]
Thymol	LLE	Spectrophotométrie	$1 \mu\text{g/L NH}_3\text{-N}$	[79]

Tableau 9. Méthodes de type Berthelot utilisées avec extraction.

I.2.1.1.4. Méthodes à l'ABTS

I.2.1.1.4.1. Méthodes générales utilisant l'ABTS

L'ABTS ou acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) est un réactif qui a été utilisé pour doser certaines espèces par des mécanismes d'oxydo-réduction. En

effet, la molécule d'ABTS (non colorée) peut être oxydée par un transfert d'électrons décrit dans la Figure 8. Le produit radicalaire $ABTS^{\circ+}$ est très stable et possède trois maximums d'absorption en spectrophotométrie (415 nm, 645 nm, 734 nm et 815 nm), avec des absorptivités molaires très élevées : $\epsilon = 3,6 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 415 nm et $\epsilon = 1,5 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 734 nm [80, 81, 82].

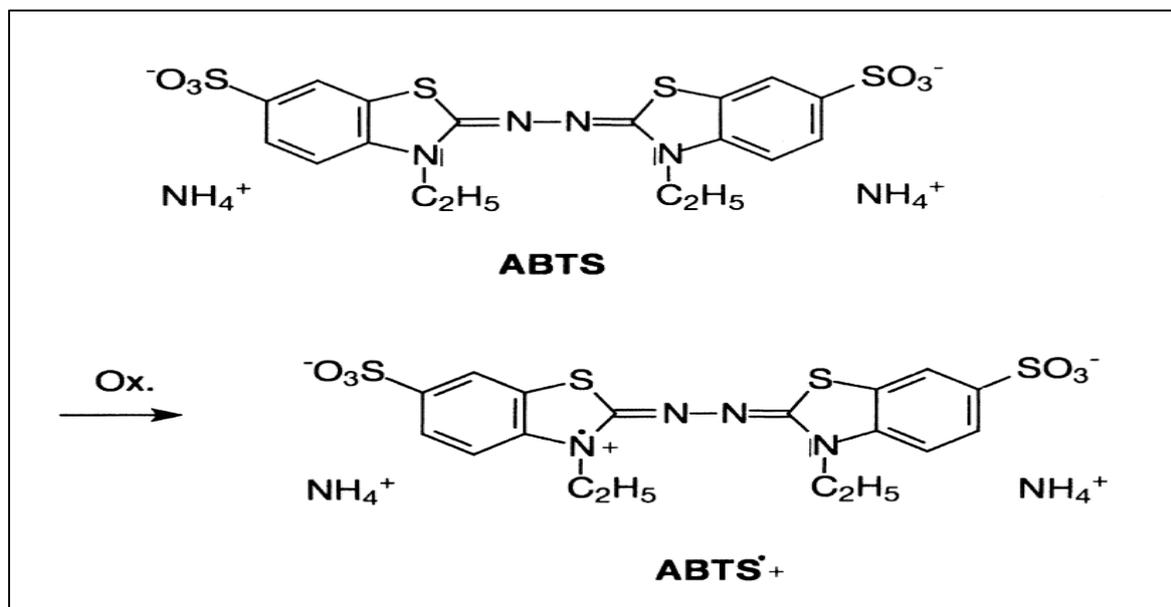


Figure 8. Structure chimique de l'ABTS et du produit oxydé $ABTS^{\circ+}$ selon Pinkernell et al, 2000 [83].

Ce composé a notamment été utilisé dans le dosage de certaines enzymes [84] ou pour évaluer la capacité antioxydante de certains aliments, en étudiant la réaction de différents antioxydants avec le radical $ABTS^{\circ+}$ [81]. Il a également été employé pour doser des oxydants forts comme l'ozone [82], les persulfates [85] ou les acides percarboxyliques [86], ainsi que des métaux comme le Cr(VI) dans des conditions très acides ($[H^+] = 3-6 \text{ M}$) [87].

Dans le domaine de la désinfection, l'utilisation de l'ABTS a été étudiée pour doser certaines espèces chlorées et bromées dans les eaux par une simple réaction entre ce réactif et ces composés, suivie d'une détection spectrophotométrique à 415 nm [83]. Les travaux de Pinkernell et al. ont montré que l'ABTS réagissait de la même façon avec l'acide hypobromeux et les trois bromamines inorganiques dans les conditions proposées (pH autour de 2,5). Concernant les espèces chlorées, la réaction avec l'ABTS à pH 6,5 (tampon phosphate) en présence d'ions iodure a été utilisée pour doser le chlore libre et la

monochloramine, sans possibilité de différencier ces deux composés directement (le NaNO_2 y est utilisé pour masquer le chlore libre durant la quantification de la monochloramine). Cette réaction ne permet pas par ailleurs de quantifier la dichloramine et la trichloramine. La présence des ions iodure dans ce dosage conduit également à des interférences des chloramines organiques, similaires à celles observées pour la DPD. Enfin, ces auteurs ont montré qu'aucune distinction n'était possible entre le chlore libre et le brome libre dans les conditions testées. Malgré ces limitations, les limites de détection atteintes avec l'ABTS sont excellentes (autour de $0,005 \text{ mg eq Cl}_2\cdot\text{L}^{-1}$) et permettent le dosage de très faibles concentrations d'espèces réactives bromées ou chlorées.

I.2.1.1.4.2. Dispositif pour l'analyse de la trichloramine basé sur l'utilisation de l'ABTS

Une nouvelle méthode analytique a été développée en 2014, en utilisant un dispositif spécifique afin d'extraire la trichloramine de l'échantillon, suivi par la réaction avec l'ABTS afin de quantifier la trichloramine dans les eaux [88]. Ce dispositif est formé de quatre parties : une pompe à air connectée à une valve afin d'assurer une pression constante et réglable, un dispositif d'extraction pour extraire la trichloramine de l'échantillon, un filtre pour réduire les interférences des autres chloramines inorganiques et organiques, et un dispositif de collecte de la trichloramine gazeuse dans un tube contenant le réactif ABTS afin de quantifier la trichloramine avec un spectrophotomètre UV-visible (Figure 9). Cette méthode est efficace, rapide et à bas coût avec une limite de détection pour la trichloramine de $0,01 \text{ mg Cl}_2\cdot\text{L}^{-1}$. En revanche cette méthode ne permet pas la différenciation entre les trois chloramines inorganiques.

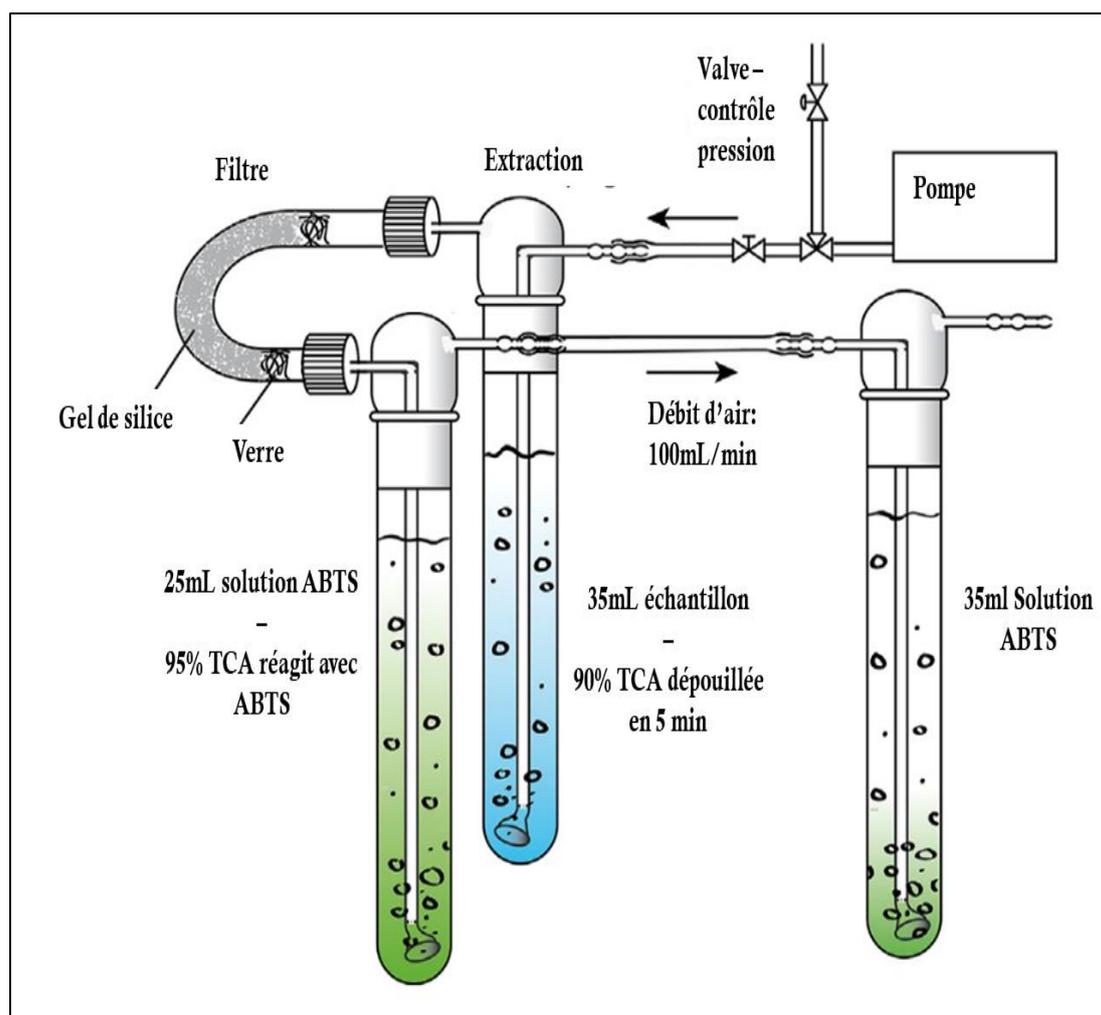


Figure 9. Schéma du dispositif basé sur l'extraction de la trichloramine et la réaction rédox avec l'ABTS selon Soltermann et al, 2014 [88].

Pour conclure cette partie sur ces méthodes, seule la monochloramine peut être quantifiée de façon fiable et spécifique parmi les trois chloramines inorganiques (méthodes utilisant les dérivés du phénol). Aucune méthode présentée dans cette partie ne permet de distinguer de façon fiable les deux autres chloramines inorganiques sans interférences d'autres composés (notamment les chloramines organiques).

I.2.1.2. Les méthodes spécifiques

Les méthodes spécifiques utilisent des techniques plus complexes permettant de séparer les composés grâce à leurs propriétés chimiques ou physico-chimiques. Du fait de leur complexité, elles sont en général difficilement transportables et plus complexes à mettre en œuvre. Parmi ces méthodes, nous pouvons citer : :

- 1) La chromatographie en phase liquide (LC)
- 2) La chromatographie en phase gazeuse (GC)
- 3) La spectrométrie de masse (MS)

I.2.1.2.1. Chromatographie en phase liquide (LC)

La séparation des chloramines inorganiques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a été proposée dès 1987, en utilisant une colonne remplie de silice greffée de type C18, avec une détection directe par spectrophotométrie UV-visible. Les conditions étudiées ont concerné la phase mobile utilisée, le débit de la phase mobile ainsi que le domaine d'absorptivité et les maximums d'absorptions de chaque chloramine inorganique. L'élution des deux chloramines MCA et DCA les plus hydrophiles a été effectuée avec une phase aqueuse à pH 6,9 (tampon phosphate). Pour la trichloramine, qui est un composé caractérisé par une grande hydrophobicité, l'élution a été effectuée en utilisant un mélange phase aqueuse-phase organique (tampon 60%-méthanol 40%). Le tampon utilisé pour l'élution de la trichloramine dans cette étude était le tampon acétate à pH 4,5 car le tampon phosphate précipite en présence de méthanol. Chaque chloramine inorganique a été détectée en utilisant sa longueur d'onde la plus favorable en termes d'absorptivité : la monochloramine à 244 nm, la dichloramine à 295 nm et la trichloramine à 221 nm. La détection du mélange MCA et DCA se fait à 210 nm et le mélange DCA et TCA à 220 nm. Cette méthode présentait un intérêt notable du fait de la détection séparée de chaque chloramine inorganique, mais l'inconvénient était les limites de détection relativement importantes autour de 200 mg eq Cl₂.L⁻¹, ainsi que l'utilisation de tampons risquant de modifier les équilibres des chloramines pendant la séparation chromatographique [89].

Afin d'améliorer la sensibilité de la quantification des chloramines inorganiques après séparation par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la détection directe par spectrophotométrie UV a été remplacée par la détection ampérométrique [90]. En conservant les mêmes conditions pour l'élution des chloramines inorganiques (phase mobile), les résultats ont montré une amélioration notable au niveau des limites de détection, notamment pour la dichloramine (0,08-0,43 mg eq Cl₂.L⁻¹)[91]. En revanche, une étape de désoxygénation avant la détection ampérométrique est indispensable pour

éviter l'interférence de l'oxygène dissous sur les pics de la dichloramine et de la trichloramine. Cette désoxygénation conduit à la perte d'une partie des chloramines inorganiques dans la solution à cause de leur volatilité et à une modification des équilibres de chloramines, limitant fortement l'applicabilité de cette méthode de détection [90].

Une pré-colonne pour la séparation des chloramines inorganiques après dérivation chimique a été appliquée en utilisant différents réactifs dans le même but d'améliorer la sensibilité lors de la quantification du chlore combiné de manière rapide. Plusieurs réactifs ont été utilisés comme la 2-mercaptobenzothiazole avec une détection par spectrométrie UV [92] ou l'acide dansylsulfonique avec une détection par spectrofluorométrie [93]. L'inconvénient de ces méthodes est qu'il est alors impossible de différencier les chloramines inorganiques (même produit de dérivation avant la colonne), et que les chloramines organiques ont également tendance à créer des interférences.

La dérivation post-colonne après la séparation des chloramines inorganiques afin d'améliorer la sensibilité et la spécificité a également été étudiée en utilisant l'iodure de potassium et avec une détection par spectrophotométrie visible ou électrochimique [94]. Le produit formé après réaction entre les chloramines inorganiques et l'iodure de potassium est l'ion triiodure (I_3^-). Suite à la séparation des chloramines inorganiques par la colonne C18 et à la réaction de dérivation après la séparation, la monochloramine et la dichloramine peuvent être détectées séparément avec des limites de détection autour de 0,01 mg eq $Cl_2.L^{-1}$. L'inconvénient de cette méthode de dérivation réside dans l'interférence possible des chloramines organiques qui pourraient coéluer avec les chloramines inorganiques, les ions iodure pouvant également réagir avec ces chloramines organiques.

Une autre méthode d'analyse par la chromatographie liquide pour quantifier la MCA a été proposée; elle consiste en une méthode de micro-extraction en phase solide (IT-SPME LC capillaire) et sans aucune étape de dérivation chimique (détection UV directe) [95, 96]. L'étape initiale dans cette méthode est la préconcentration de la MCA en remplaçant la vanne d'injection par un segment de colonne capillaire GC (20 cm x 0,32 mm) en polymère siloxane substitué avec 5% de groupement phényle (GC TRB-5) et avec un

volume interne de 25 μL . Les composés comme la monochloramine sont extraits sur la surface interne de la colonne capillaire, et les analytes sont désorbés par le flux de la phase mobile (méthanol : tampon phosphate pH 10 : 60 :40). L'efficacité de cette méthode dépend de plusieurs facteurs : la surface interne du segment de la colonne GC capillaire utilisé, le volume injecté, ainsi que la phase mobile utilisée dont le pH du tampon phosphate qui peut influencer soit sur la spéciation des chloramines inorganiques soit sur la détection de la monochloramine dans la phase aqueuse. Enfin, l'utilisation de cette combinaison conduit à la détection de la monochloramine à faible concentration (limite de détection : 0,01 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) mais n'a pas été décrite pour la DCA ou la TCA.

I.2.1.2.2. La chromatographie en phase gazeuse (GC)

La chromatographie en phase gazeuse avec espace de tête (HS-GC) et détection par spectrométrie de masse (MS) a été utilisée pour la quantification de la trichloramine dans les eaux potables [97]. La Figure 10 montre le chromatogramme obtenu lors de la quantification de la trichloramine par HS-GC/MS. Les valeurs (m/z) des pics utilisés étaient de 51 (quantification), 119 (identification) et 123 (identification), avec une limite de détection de la trichloramine de 15 $\mu\text{g eq Cl}_2\cdot\text{L}^{-1}$. L'étude présente la possibilité de la quantification de la dichloramine avec cette méthode sans précision de la limite de détection. La monochloramine est très polaire et il faudrait donc au minimum une étape de dérivation supplémentaire pour analyser ce composé en GC, même si cela n'a jamais été décrit jusqu'à maintenant.

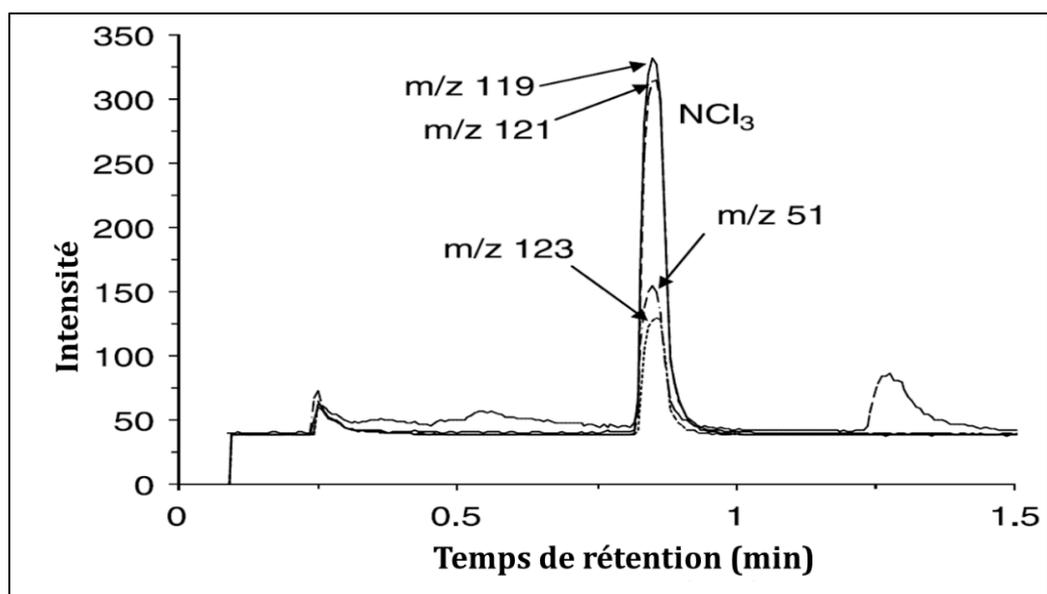


Figure 10. Chromatogramme de la trichloramine déterminée par HS-GC/MS selon Kosaka et al, 2010 [97].

I.2.1.2.3. La spectrométrie de masse à introduction par membrane (MIMS)

La spectrométrie de masse à introduction par membrane (MIMS) se base sur la séparation des composés par une membrane semi-perméable comme interface directe entre les échantillons à analyser et le spectromètre de masse. La membrane sert à transférer les analytes sous forme de mélange à la source d'ions et à assurer une préconcentration des analytes, ce qui permet d'améliorer la sensibilité. Les analytes sont ensuite quantifiés en se basant sur leur rapport de masse (m/z) [98,99]. Cette méthode a été utilisée pour la mesure directe, en ligne et en temps réel depuis plus de 35 ans pour des échantillons gazeux, liquides et solides ainsi que pour des milieux complexes hétérogènes [100, 101]. Les membranes utilisées sont formées de matériaux polymériques hydrophobes de type polydiméthylsiloxane (PDMS), adaptés à l'analyse de composés organiques volatils et semi-volatils, ainsi que d'autres types de membranes comme des membranes capillaires à fibres creuses (HFM) ou des membranes microporeuses de type polyvinylidène [99].

L'application de la spectrométrie de masse à introduction par membrane pour l'analyse des chloramines inorganiques [102] et organiques [103] dans les eaux a été introduite en 1991 par Kotiaho et al. (Figure 11). La méthode présente l'utilisation d'une membrane en

silicone pour la séparation des chloramines inorganiques avant le transfert vers le détecteur pour la quantification, avec une limite de détection de $0,7 \text{ mg eq Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ pour la monochloramine. Aucune indication n'est donnée pour les autres chloramines inorganiques [102].

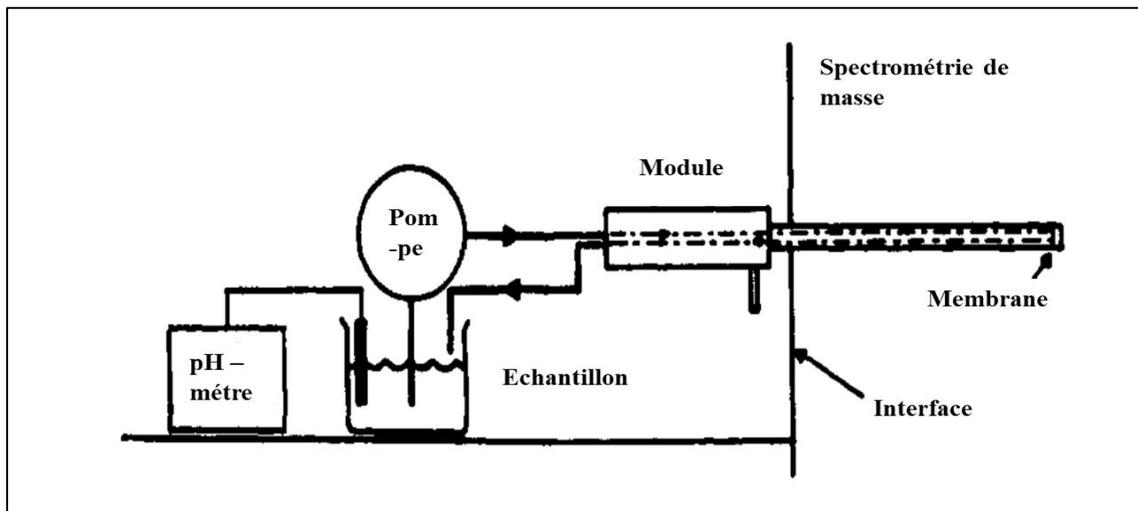


Figure 11. Schéma présentant le MIMS pour la quantification des chloramines inorganiques selon Kotiaho et al, 1991 [103].

En 1999, la quantification des chloramines inorganiques a été effectuée également avec un MIMS en optimisant le système. La membrane a été introduite dans un tube de verre de longueur 5 cm, et un four de GC a été ajouté avant le transfert des analytes vers le détecteur de masse (Figure 12).

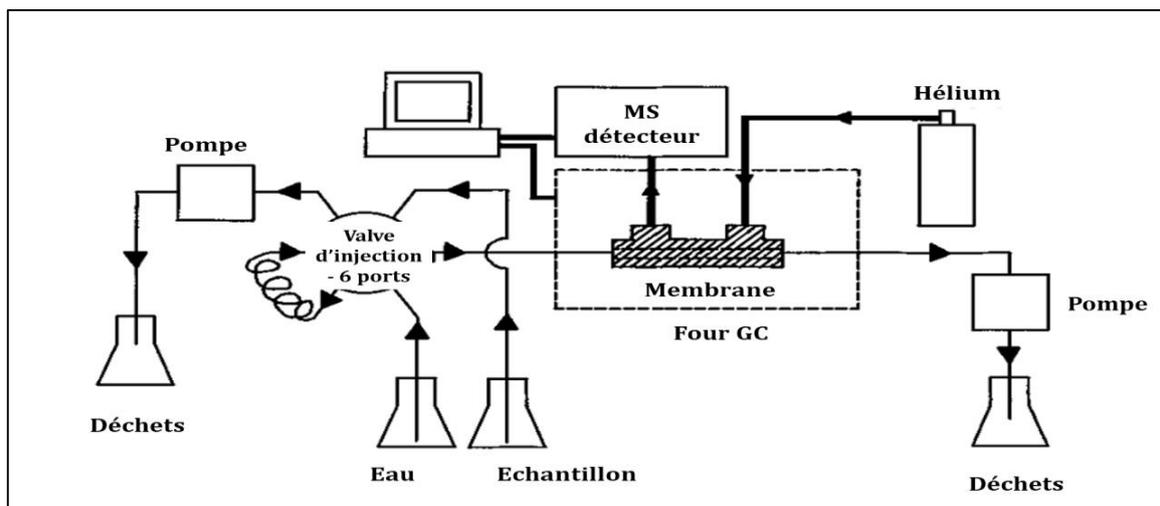


Figure 12. Schéma présentant le système MIMS avec le four pour la quantification des chloramines inorganiques selon Shang et al, 1999 [104].

Les limites de détection obtenues selon cette méthode sont de 0,1 mg eq Cl₂.L⁻¹ pour la monochloramine, 0,02 pour la dichloramine et 0,06 pour la trichloramine [104]. Cette méthode assure la différenciation entre les chloramines inorganiques, mais elle reste très coûteuse et nécessite un savoir-faire technique important.

En conclusion de cette partie sur l'analyse des chloramines inorganiques, aucune méthode à bas coût ne permet jusqu'à maintenant de différencier et de quantifier de façon sensible les trois chloramines inorganiques sans interférences des chloramines organiques.

I.2.2. Méthodes de quantification du brome et des bromamines inorganiques

La méthode employée fréquemment pour la quantification des espèces bromées repose sur l'utilisation de la méthode DPD/FAS. Cette méthode souffre de plusieurs problèmes, notamment la faible stabilité du produit coloré formé à partir du brome par rapport au produit chloré [69], sans oublier que cette méthode n'assure pas la différenciation entre le chlore, le brome, les chloramines et les bromamines (réaction identique avec tous ces composés). Elle est également caractérisée par un manque de sélectivité (par rapport aux chloramines et bromamines organiques), comme déjà présenté dans la partie I.2.1.1.1. Des développements à cette méthode DPD/FAS ont été apportés par la suite, la différenciation entre le brome libre et le chlore libre étant effectuée par ajouts d'agents masquants (notamment avec la glycine qui masque le chlore libre). Dans tous les cas, cette méthode ne permet pas la différenciation entre les chloramines et les bromamines inorganiques [105].

D'autres méthodes ont été proposées dans les années 60 et 70 pour différencier les espèces chlorées et bromées. En revanche, peu d'études présentent des méthodes concernant la différenciation entre le chlore et le brome libre, ainsi qu'entre les chloramines et les bromamines inorganiques. Le Tableau 10 suivant présente ces différentes méthodes proposées: hélianthine ou méthylorange, DPD oxalate, phénol rouge, pourpre de bromocrésol et phénosafranine [106]. Ces réactifs ont été utilisés dans des conditions différentes afin de déterminer les chlores et bromes résiduels dans les

échantillons, la plupart du temps avec des limites de détection élevées, des méthodes complexes et des réactifs toxiques.

Méthode proposée	Composés résiduels	pH
Hélianthine	Cl ₂ + Br ₂ + Bromamines	2
Hélianthine + Br⁻	Cl ₂ + Br ₂ + Bromamines + chloramines	2
DPD oxalate	Cl ₂ + Br ₂ + Bromamines	6,3
DPD oxalate + KI	Cl ₂ + Br ₂ + Bromamines + chloramines	6,3
Rouge de phénol	Br ₂ + Bromamines	5
Pourpre de bromocrésol	Br ₂	9,5
Phénonsafranine	Br ₂	9,5

Tableau 10. Les méthodes proposées pour la différenciation entre les chlores et les bromes résiduels selon Sollo et al, 1971 [106].

Enfin, l'ABTS a été utilisé en 2000 pour analyser les différentes espèces (Tableau 11). Comme indiqué précédemment, cette méthode ne permet pas de distinguer le chlore libre du brome libre, le brome libre des bromamines, et elle ne permet pas de quantifier la dichloramine et la trichloramine.

Méthode proposée	Composés résiduels	pH
ABTS/acide sulfurique	HOBr + Bromamines	2
ABTS/ tampon phosphate	HOCl + NH ₂ Cl+ ClO ₂	6,5
ABTS/ tampon phosphate/nitrite	NH ₂ Cl	6,5
ABTS/ tampon phosphate/nitrite	HOCl + NH ₂ Cl	6,5

Tableau 11. Méthodes proposées pour la quantification du chlore libre, MCA, brome libre et bromamines selon Pinkernell et al, 2000 [83].

I.2.3. Méthodes de quantification des trihalométhanes

Les concentrations des THMs dans les eaux naturelles et les eaux potables peuvent être inférieures au $\mu\text{g/L}$, d'où la nécessité d'avoir un système d'analyse qui permette d'atteindre des niveaux de sensibilité très bas. On peut subdiviser les méthodes d'analyse des THMs dans les eaux en deux parties : avec ou sans séparation chromatographique (GC). Les méthodes directes (sans séparation chromatographique) sont basées sur la réaction de Fujiwara avec détection par spectrophotométrie ou par spectroscopie de fluorescence, alors que les méthodes d'analyse des THMs par chromatographie gazeuse sont basées sur une détection par capture d'électrons (ECD) ou par spectrométrie de masse (MS).

I.2.3.1. Chromatographie en phase Gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (GC) est la technique la plus utilisée afin de séparer, identifier et quantifier les composés organiques les plus volatils notamment les THMs. Cette technique a été utilisée avec une injection directe de l'échantillon de THMs dans l'eau (sans aucune étape d'isolation ou de préconcentration pour les composés) suivie par la détection avec un spectromètre de masse (MS) ou un détecteur à capture d'électrons (ECD) [107], ce qui évite tout type de pollution de l'échantillon ou la perte des composés volatils. Cependant, la limite de détection des THMs suite à l'injection directe est autour de $5 \mu\text{g/L}$ [108], ce qui peut être insuffisant dans certains cas. Plusieurs méthodes de préconcentration ont donc été développées afin d'améliorer la sensibilité de l'analyse des THMs par ces techniques.

I.2.3.1.1. Extraction liquide-liquide et extraction sur phase-solide

La méthode de préconcentration la plus utilisée pour l'analyse des composés halogénés dans les eaux est la méthode de l'extraction liquide-liquide dans un solvant organique. Plusieurs études publiées ont utilisé cette méthode, en remplaçant le solvant le plus utilisé, le MTBE (methyl-tert-butyl-ether) [109, 110], par d'autres comme l'hexane ou le n-pentane [111, 112]. En revanche, cette méthode présente l'inconvénient de la perte potentielle de composés volatils (lors de l'agitation et de l'évaporation du solvant), ainsi

que l'utilisation de solvants organiques toxiques en quantité importante. La technique de micro-extraction en goutte simple a été proposée afin de diminuer la consommation de solvants organiques [113]. L'échantillon est placé dans un flacon bien scellé puis perforé avec une micro-seringue dans laquelle la microgoutte du solvant organique reste suspendue puis transférée vers le système de GC/FID pour l'analyse après atteinte de l'équilibre entre les deux phases [114].

L'extraction en phase solide par l'utilisation de cartouches SPE a été utilisée pour l'extraction des THMs des échantillons aqueux afin d'être séparés par GC. Différents types de cartouches ont été testés (Supelclean™ ENVI_18, HyperSep™ C-18 et ePrep SPEed C_18) en fonction de différents solvants (méthanol, acétonitrile et pentane) pour l'élution. Par contre, les résultats de recouvrement obtenus en choisissant les meilleures conditions d'extraction et d'élution avec SPE ont été inférieurs à ceux obtenus par extraction liquide-liquide [115].

I.2.3.1.2. Techniques utilisant l'espace de tête (*Headspace*)

Pour ces techniques, l'échantillon est placé dans un flacon avec espace de tête (*headspace*), bien scellé et placé dans une enceinte thermostatée. Les composés volatils dans l'espace de tête sont ensuite transférés dans la colonne (méthode de l'espace de tête statique, *static headspace gas chromatography* HS-GC). Cette méthode est simple et rapide mais elle est peu sensible [116], plusieurs modifications ont donc été effectuées pour améliorer la sensibilité.

I.2.3.1.2.1. Espace de tête avec micro-extraction en phase solide (HS-SPME)

La méthode HS-SPME est une technique d'extraction des composés organiques volatils sans utilisation de solvants organiques, basée sur les propriétés d'adsorption des matériaux contenus dans des fibres utilisées comme micro-extracteur en phase solide [117]. Cette méthode présente plusieurs avantages : possibilité d'automatisation, absence de solvants, et sensibilité. Par contre, le coût élevé des fibres et le besoin du contrôle strict de l'agitation et de la température peut limiter son application [118].

I.2.3.1.2.2. Techniques de purge (Purge & trap)

Pour ces techniques, les substances volatiles à analyser sont purgées par un gaz inerte à température ambiante, puis reconcentrées soit dans un piège à froid soit sur des cartouches contenant un matériau adsorbant [119]. La colonne contenant l'adsorbant est ensuite chauffée pour désorber les composés et les envoyer vers la colonne. Les limites de détection pour les trihalométhanes avec cette méthode peuvent atteindre le ng.L^{-1} , mais ces méthodes restent très longues et les risques de contamination entre échantillons peuvent être importants.

I.2.3.1.3. Techniques avec membranes

L'utilisation de membranes pour l'analyse des composés organiques volatils a pour but d'extraire les composés volatils par passage à travers une membrane, et ainsi améliorer la sensibilité de la détection. Différents matériaux de membrane peuvent être utilisés comme le polypropylène ou le silicone.

La micro-extraction en phase liquide par fibres (HF-LPME) est une des méthodes membranaires où les THMs sont extraits de la phase aqueuse vers la phase organique (octanol) en passant à travers la membrane sans besoin d'agiter ni de chauffer. Cette méthode permet une meilleure stabilisation du solvant que la technique par microgoutte [120, 121].

Un autre type de membrane (échantillonnage par membrane capillaire, CMS) a été utilisé pour la détermination des THMs dans l'eau par un système d'échantillonnage avec membrane. Ce système fabriqué en laboratoire consiste en une membrane de type caoutchouc silicone insérée dans un tube Tefzel. L'eau à analyser s'écoule en continu dans l'espace situé entre le tube Tefzel et la membrane, de sorte que les composés traversent la membrane de l'extérieur à l'intérieur du tube en silicone (Figure 13). En outre, cette membrane a été utilisée avec deux différents couplages, l'un avec l'analyse en flux (CMS-FIA) [122] et l'autre couplé avec la GC-ECD où un flux de gaz N_2 est utilisé pour transporter les analytes au module GC-ECD [123]. L'utilisation des membranes offre donc la possibilité de récupérer directement les analytes sans utilisation de solvants

organiques, mais ces systèmes sont en général complexes à fabriquer, la membrane peut se colmater et la capacité de la membrane peut être dépassée pour les échantillons trop concentrés.

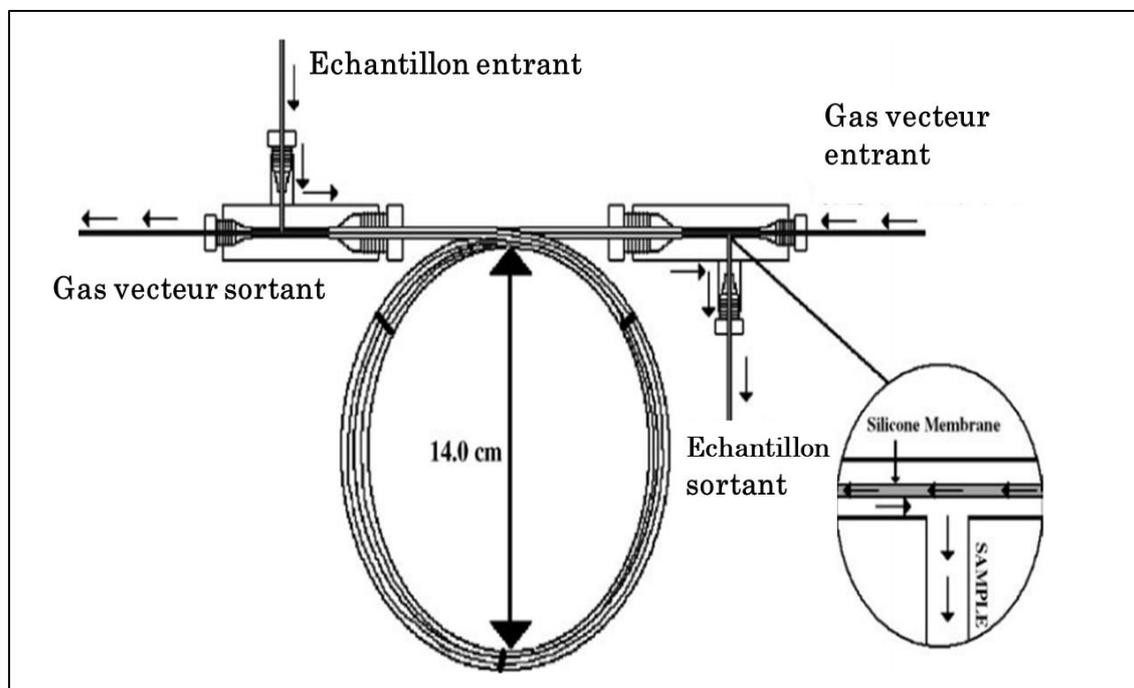


Figure 13. Schéma descriptif de la membrane CMS à l'intérieur du système selon Geme et al 2005, [122].

La combinaison de ces différents systèmes d'extraction avec des systèmes d'analyse comme la GC-MS ou ECD présente donc des caractéristiques intéressantes, mais ces combinaisons restent des configurations analytiques chères et difficilement portables. Des méthodes alternatives plus abordables et plus simples restent donc désirables d'un point de vue technique.

I.2.3.2. Réaction de Fujiwara

La réaction de Fujiwara est connue et utilisée depuis 1914 pour la détection des composés halogénés (notamment les THMs) dans l'air, les extraits de tissu, les fluides corporels ou dans les eaux. La réaction de Fujiwara est basée sur la réaction à chaud entre ces composés et la pyridine (C_2H_5N) en présence de soude. Le mélange de réactifs se sépare en deux phases dès l'ajout de composés halogénés, le produit rouge formé dans la phase organique correspond aux dérivés halogénés formés dont la concentration est

déterminée avec un spectrophotomètre à 540 nm [124, 125]. Ce dérivé rouge formé peut aussi être détecté par spectroscopie de fluorescence à une longueur d'onde d'excitation de 540 nm et une longueur d'onde d'émission de 600 nm.

Plus de 32 composés organiques ont pu être détectés avec la méthode de Fujiwara classique [125], mais comme la limite de détection n'était pas assez basse pour analyser les traces des THMs dans les eaux potables, la méthode a par la suite subi de nombreuses modifications. Pour améliorer cette limite de détection ainsi que la sélectivité, la pyridine a été substituée par ses dérivés, la quantité de la soude et le temps de réaction ont été modifiés, mais, au final, les conditions optimales de réaction n'ont pas été clairement définies ni fait l'objet d'un plan d'expériences [126]. Certains auteurs ont également ajouté des étapes de préconcentration avec membrane ou d'extraction purge and trap pour améliorer la sensibilité et la sélectivité de la méthode.

Dans un premier temps, la pyridine a été testée en présence de différents solvants comme le diméthylsulfoxyde (DMSO), l'acétonitrile, l'isopropanol. Les résultats ont montré que le solvant organique utilisé a une influence notable sur le rendement de la réaction, par exemple lors de l'utilisation de l'isopropanol, les aldéhydes ou les cétones réagissent mais le dérivé rouge formé n'est pas quantifiable [126].

Par la suite, plusieurs études ont tenté de simplifier la réaction de Fujiwara pour n'obtenir qu'une seule phase, en ajustant la quantité de base et d'eau à ajouter en présence de pyridine, mais une étape de chauffage à 100 °C pendant deux minutes était alors indispensable pour pouvoir obtenir le dérivé rouge mesurable à 535 nm [126]. D'autres conditions ont été testées comme le remplacement de la base inorganique (NaOH) par une base organique comme l'hydroxyde de tétrabutyl-ammonium mais la réaction était très lente avec néanmoins une très bonne limite de détection de 8 ng.mL⁻¹ [127, 128].

Le remplacement de la pyridine par d'autres réactifs a été testé dans les années 1980, par exemple par la nicotinamide suivie d'un ajout de benzidine ; toutefois la sensibilité avec ce composé était bien moindre qu'avec la pyridine [129]. La nicotinamide a également été utilisée après une étape d'extraction utilisant une séparation sur membrane PTFE dans le but d'éliminer les interférences, suivie de deux étapes importantes pour réaliser la réaction avec la nicotinamide : chauffage à 98 °C suivie d'une étape de refroidissement dans un bain de glace pour obtenir le dérivé coloré mesurable par spectroscopie de

fluorescence à la longueur d'onde d'excitation de 372 nm et la longueur d'onde d'émission de 467 nm [130]. La nicotinamide a aussi été utilisée avec une pré-étape d'extraction sur membrane de filtration capillaire, toujours avec une étape de chauffage suivie d'une étape de refroidissement pour analyser les trihalométhanes et les acides haloacétiques dans les eaux potables [122, 131].

D'autres composés dérivés de la pyridine (isonicotinamide, 3-aminopyridine, 2-benzoylpyridine, picoline, quinoline...) ont également été testés dans différentes conditions (solvants organiques, bases organiques et inorganiques) en analysant le produit formé soit par spectrophotométrie UV, soit par spectroscopie de fluorescence pour analyser le chloroforme. En revanche, le taux de recouvrement des dérivés formés n'a pas dépassé 50% de la quantité de chloroforme présent dans la solution [129].

De plus, d'autres solvants organiques comme l'acétonitrile (MeCN), le diméthylsulfoxyde (DMSO), l'acétone, le méthanol (MeOH), l'acétate d'éthyle et le tétrahydrofurane (THF) ont été testés en présence des différentes bases organiques comme l'hydroxyde de tétrabutyl-ammonium, l'hydroxyde de tétraméthyl-ammonium et l'hydroxyde de tétrapropyl-ammonium pour améliorer la réaction de Fujiwara [129, 132].

En ce qui concerne le mécanisme de la réaction de Fujiwara avec le chloroforme, plusieurs mécanismes ont été proposés, notamment la dernière proposition de Yang en 1997, présenté dans la Figure 14. Ce mécanisme propose plusieurs étapes déjà suggérées dans les autres mécanismes publiés précédemment, mais elle comprend différentes étapes de réaction. Le carbène se formerait d'abord dans la solution basique à cause de la réaction entre CHCl_3 et la base, qui va réagir avec la pyridine en formant le composé (IIA), ce composé va perdre un anion de chlore en formant l'intermédiaire (IIB). Puis cet intermédiaire va réagir de nouveau avec la pyridine en générant le composé (IIIA) qui va de nouveau perdre un ion chlore en reformant une nouvelle intermédiaire présentée dans la Figure sous le nom (IIIB). Par suite, un ion hydroxyde attaque la position 2 du noyau de la pyridine dans le composé (IIIB) en donnant naissance au composé (IIIC), suivi par une étape de protonation en formant le composé (IIID). De nouveau, l'attaque avec les ions hydroxydes produit le composé (IIIE), la charge positive dans ce composé agit comme un électrophile qui va induire l'oxygène pour transférer ses électrons vers l'azote dans le cycle de pyridine. Ensuite, la charge positive est déchargée en donnant naissance

au composé (IIIF) qui est l'intermédiaire de trois composés (IV), (V) et (VI) formés et détectés à différentes longueurs d'ondes.

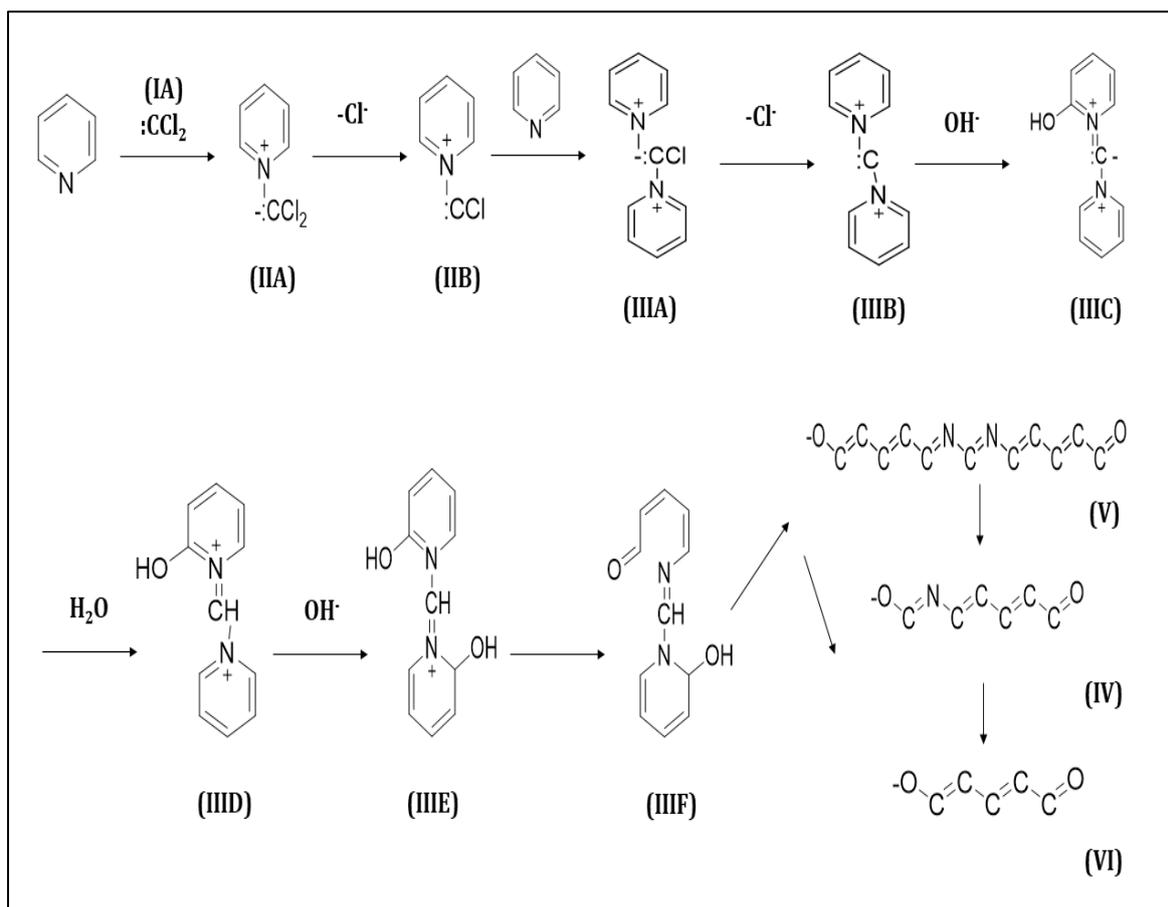


Figure 14. Mécanisme proposé pour la réaction de Fujiwara par Yang, 1997 [129].

La réaction de Fujiwara a donc simplifié l'analyse des THM par rapport aux techniques plus complexes et plus coûteuses basées sur la chromatographie en phase gazeuse. Toutefois, la réaction de Fujiwara nécessite toujours des étapes de chauffage et de refroidissement, ce qui rend impossible son utilisation dans un système portable d'analyse sur site des composés volatils.

I.3. Les Systèmes d'analyse en flux

La recherche d'une méthode d'analyse adaptable sur le terrain, automatisée, en ligne, sensible, rapide et économique est un réel défi pour identifier et quantifier les sous-produits de désinfection afin de contrôler la qualité des eaux désinfectées. Les techniques d'analyse en flux présentent des avantages pouvant permettre de développer des

méthodes d'analyse pour les chloramines et les THMs ayant les propriétés citées ci-dessus [133].

I.3.1. Présentation des principaux systèmes d'analyse en flux

Les technologies de l'analyse en flux se sont développées à partir des années cinquante en proposant pour la première fois un système d'analyse en flux segmenté (SFA) [134] permettant le développement de nouvelles méthodes d'analyse automatisées basées notamment sur des réactions colorimétriques et répondant à l'origine à des besoins d'analyse chimique croissants dans le domaine des diagnostics médicaux ou des analyses de laboratoire. Dans ces techniques de SFA, l'échantillon était mélangé à un ou plusieurs réactifs et séparés par des bulles d'air pour éviter la contamination entre échantillons, et le mélange était ensuite transféré vers une cellule de détection après dégazage des bulles d'air.

L'apparition des techniques d'analyse par injection en flux (FIA) non segmenté en 1975 [135] a permis d'éviter le problème des bulles d'air (systèmes complexes, réduction de l'efficacité des techniques de séparation...) et a progressivement remplacé la technique de SFA [136]. Dans cette technique, l'échantillon n'est plus aspiré en continu, mais simplement inséré dans un flux de liquide vecteur via une vanne d'injection (Figure 15). Les analyses sont ainsi plus rapides, les volumes d'échantillon sont beaucoup plus faibles et il est beaucoup plus facile d'ajouter des étapes de séparation et d'extraction des analytes [137, 138, 139].

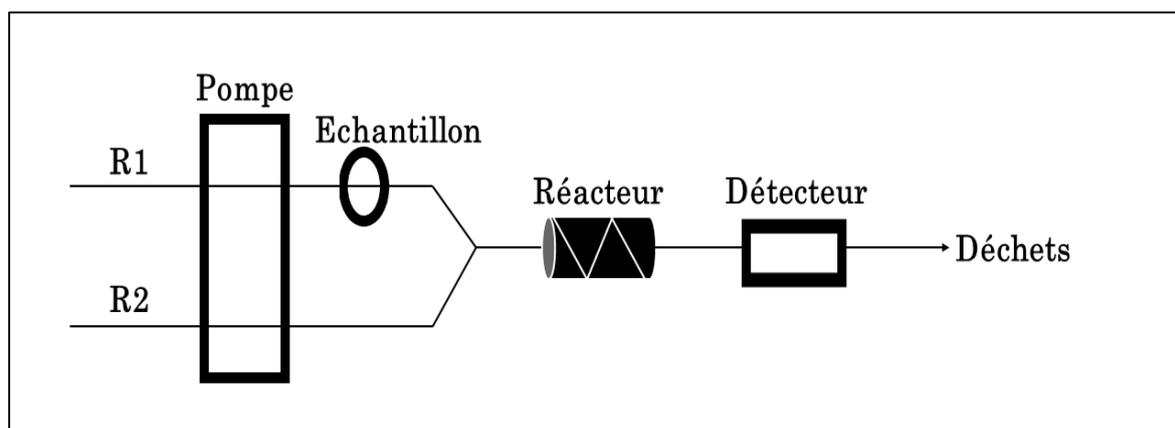


Figure 15. Schéma descriptif du système d'analyse par injection en flux (FIA).

En 1990, le développement de l'informatique a permis le développement d'une nouvelle approche, l'analyse par injection séquentielle (SIA) [140]. Dans cette approche, la propulsion des liquides est assurée par une seringue reliée au port central d'une vanne de sélection, lui-même relié à différents ports latéraux de façon séquentielle. La boucle d'attente située après la seringue permet de stocker le liquide aspiré afin de repasser dans un des ports latéraux, et la boucle de réaction située après la vanne permet d'assurer la réaction entre les réactifs et l'échantillon avant l'étape de détection [133], comme indiqué dans la Figure 16.

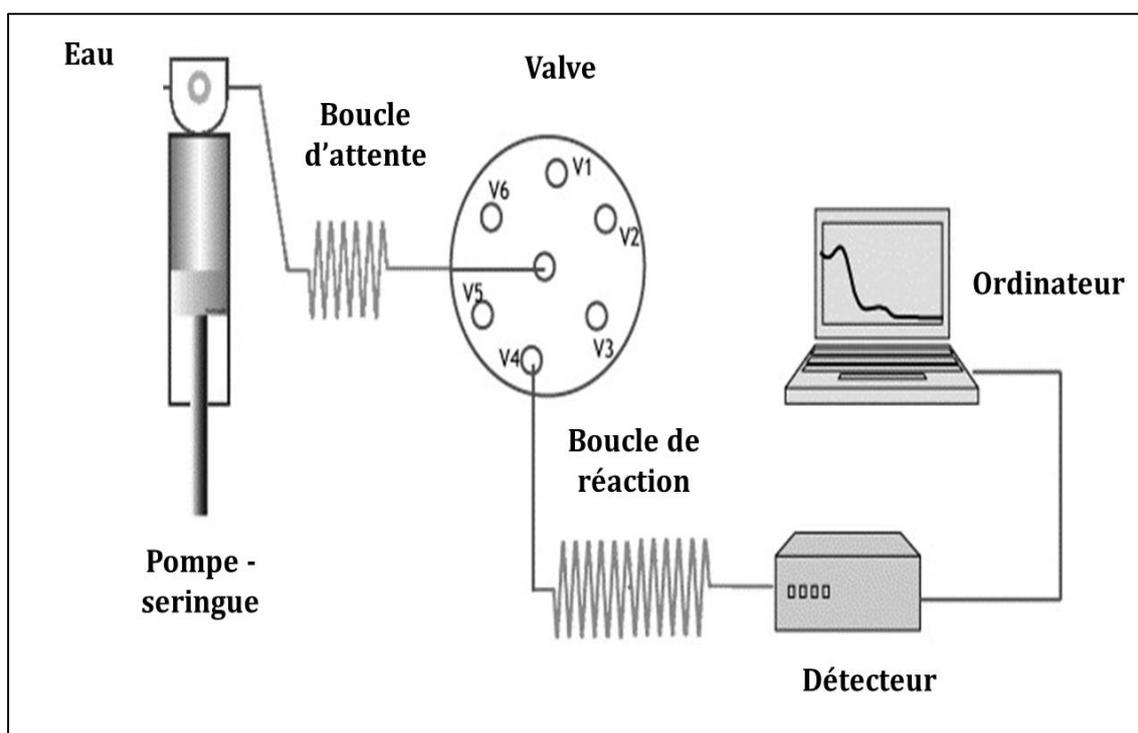


Figure 16. Schéma descriptif du système d'analyse par injection séquentielle (SIA).

La plupart des systèmes d'analyse en flux sont encore basés sur ces deux systèmes d'introduction d'échantillons et de réactifs dans le flux. Différents systèmes de poussée des fluides ont été développés et utilisés, seuls ou en combinaison pour augmenter les capacités d'analyse des systèmes d'analyse en flux. Parmi eux, nous pouvons citer (Figure 17) :

A) La pompe péristaltique, la plus utilisée historiquement dans le domaine de l'analyse en flux SFA et FIA. Elle assure un écoulement constant qui permet d'obtenir une très grande reproductibilité. Le fluide ou l'échantillon passe à travers des tubes flexibles,

l'utilisation des tubes présentant l'avantage que les solutions n'entrent pas en contact direct avec la pompe. Le débit est contrôlé par le diamètre interne du tuyau utilisé et la vitesse de rotation de la pompe, cependant le taux de distribution diminue progressivement à la suite de la dégradation des tuyaux. Généralement, les tuyaux ne sont pas chers et leur remplacement est facile et recommandé dans le cadre de la maintenance [141].

B) La pompe solénoïde à deux voies, mettant en œuvre des mouvements de piston obtenus en faisant passer un courant électrique à travers une résistance enroulée autour du piston [142]. Ce type de pompes présente plusieurs avantages comme la miniaturisation de la pompe ou la flexibilité (peut être contrôlée de manière indépendante) [143].

C) L'électrovanne à trois voies (ou vanne de commutation) couplée à une pompe, elle permet de diriger le flux vers deux positions différentes (ON ou OFF). Ces vannes sont à l'origine des systèmes d'analyse en flux multi-commutés (MCFA) et permettent une grande flexibilité dans la construction des systèmes d'analyse en flux, et servent également à économiser l'utilisation des réactifs ou de l'échantillon grâce aux deux positions de sortie [144].

D) La pompe piston utilisant des seringues. Des modules multi-seringues (2 à 8 seringues de différents volumes possibles) peuvent être utilisés pour pomper les échantillons et les réactifs en même temps dans le flux et ainsi gagner en flexibilité d'analyse. Ces modules ont conduit à l'apparition de l'analyse en flux par injection multi-seringues (MSFIA) [145]. Les seringues sont pilotées par le même moteur et se déplacent donc en même temps avec la même vitesse. Chaque vanne de seringue possède deux positions (ON et OFF) l'une connectée à l'échantillon ou aux réactifs pour les aspirer en premier lieu, et l'autre au système pour pousser ensuite les liquides, ce qui nécessite un peu plus de temps que les autres pompes car deux étapes sont nécessaires pour introduire les fluides dans le système. Ces pompes ont par contre l'avantage de ne pas présenter de pulsations, d'être stables dans le temps et très résistantes aux produits chimiques [139, 146].

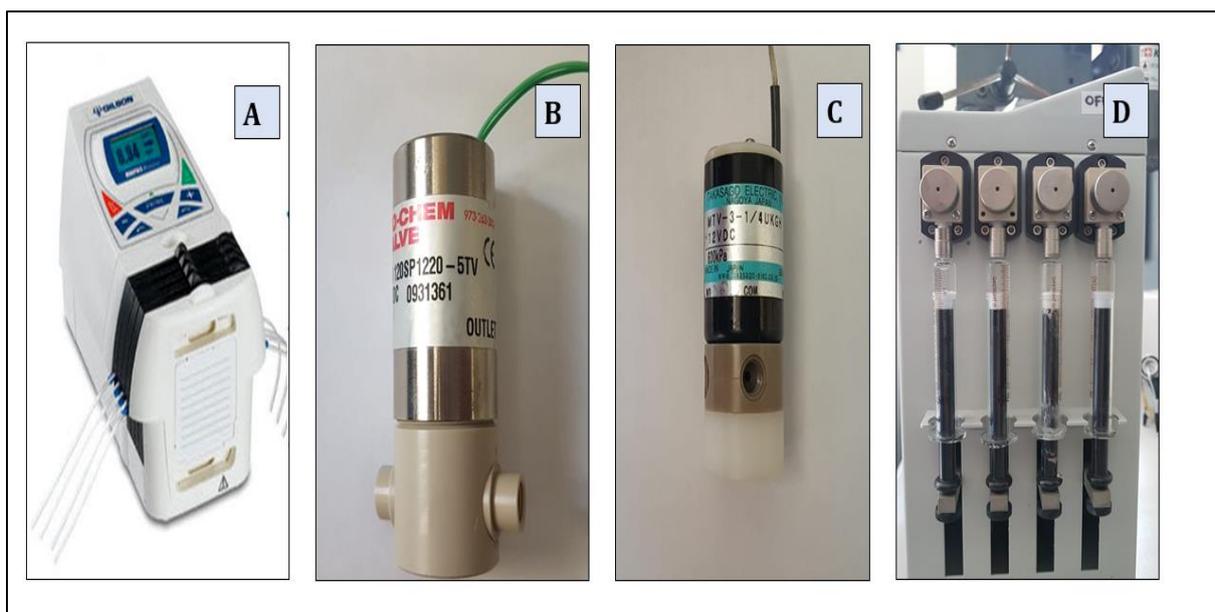


Figure 17. Pompes utilisées dans la technologie d'analyse en flux (A. pompe péristaltique, B. pompe solénoïde, C. électrovanne à 3 voies, et D. pompe multi-seringue).

En terme de détection, un des points les plus importants en analyse en flux correspond à la large gamme de détecteur que l'on peut connecter : spectrophotométrie UV-visible, absorption-émission atomique, fluorescence atomique, spectroscopie de fluorescence, chimiluminescence, électrodes sélectives, potentiométrie, réfractométrie, colométrie[133]. Le détecteur doit par contre être compatible avec l'échantillon et les exigences générales en matière d'analyse, telles que la sensibilité, la géométrie ou le temps de réponse.

I.3.2. Techniques avancées d'analyse en flux pour la séparation et la préconcentration d'analytes

De nombreuses méthodes d'analyse en flux possèdent des caractéristiques analytiques insuffisantes en termes de sélectivité ou de sensibilité. Des étapes de séparation et/ou de préconcentration en ligne sont alors nécessaires pour adapter la méthode d'analyse au besoin analytique. Quelques exemples de techniques d'extraction et de séparation sur colonne chromatographique utilisables en analyse en flux seront présentées dans cette partie.

I.3.2.1. Méthodes d'extraction et de préconcentration

L'extraction liquide-liquide (LLE) est la méthode commune de prétraitement, séparation et préconcentration étant deux étapes communément utilisées dans le domaine analytique qui permettent d'améliorer la sensibilité et la sélectivité des analyses effectuées. L'introduction de l'analyse en flux avec l'extraction liquide-liquide a été appliquée dès 1981 en utilisant la pompe péristaltique pour la détermination de métaux à l'état de traces [147]. Ce développement a contribué à la réduction de la consommation de solvants organiques, de réactifs et d'échantillons ainsi qu'à la réduction de déchets par rapport à l'extraction manuelle [148]. Pour cela, ce couplage extraction liquide-liquide avec système d'analyse en flux a été appliqué dans différents domaines [149, 150, 151].

La préconcentration et la purification des échantillons en utilisant l'extraction en phase solide (SPE) ont été utilisées dès 1970 pour suppléer l'extraction liquide-liquide. La SPE a très largement amélioré ses performances au cours des dernières années, grâce à la synthèse de nouveaux adsorbants par l'élaboration de nouveaux supports de filtration, et par son utilisation couplée avec les systèmes d'analyse chromatographique : par exemple, le couplage SPE-GC/MS pour l'analyse de traces de composés organiques dans les eaux [152]. De plus, la combinaison entre cette méthode efficace de préconcentration avec des systèmes d'analyse par injection en flux a été déjà utilisée avec succès et permet de développer de nouvelles méthodes d'analyse plus efficaces, rapides, sensibles et moins coûteuses dans de nombreux domaines.

Par exemple, en 2009, le couplage de l'extraction en phase solide SPE avec une pompe multi-seringue du système d'analyse en flux d'injection MSFIA sous forme SPE-MSFIA a été utilisé pour améliorer la détermination de l'ion sélénite en se basant sur la réaction des ions sélénites avec une *o*-diamine (2,3-diaminonaphthalene) pour former le complexe piásélenol [153]. Cette méthode a été aussi utilisée en 2013 pour suivre la dégradation photocatalytique d'herbicides [154]. Le couplage MSFIA avec SPE a également été appliqué comme méthode de préconcentration avant analyse par GC/MS [155].

I.3.2.2. Séparation chromatographique en analyse en flux

En général, la séparation chromatographique qui sert à séparer les différentes substances présentes dans un échantillon est effectuée avec des machines coûteuses. Cependant, l'analyse par injection en flux couplée à la chromatographie est utilisable et permet de minimiser la taille et le prix du dispositif d'analyse en utilisant une pompe multi-seringue (qui peut supporter plus de pression par rapport aux autres) avec une colonne bien adaptée à ce type de système (basse pression), une colonne monolithique.

Une colonne monolithique est formée d'un seul morceau de gel de silice poreux de haute pureté de structure bimodale constituée de macropores et de mésopores. Les macropores ont pour but de réduire la contre pression et les mésopores de former une structure poreuse fine qui fournit une très grande surface spécifique active pour des séparations de haute efficacité. Ce type de colonne possède une porosité beaucoup plus élevée, environ 15% supérieure à celle des colonnes HPLC à particules classiques [156, 157].

La séparation chromatographique couplée à des techniques d'analyse en flux a été appliquée dans différents domaines, pour la séparation et la détermination de drogues (hydrochlorothiazide et losartan potassique) dans les eaux en couplant l'extraction en phase solide avec la chromatographie multi-seringue [158], pour la séparation des vitamines solubles dans les eaux (thiamine, riboflavine, acide ascorbique, acide nicotinique, nicotinamide et l'acide pyridoxine) par simple séparation chromatographique avec la pompe multi-seringue [159], pour la détermination de colorantes azo sulfonés [160] ou pour le suivi de la dégradation photocatalytique des médicaments antituberculeux en solution aqueuse [161].

I.3.3. Méthodes par analyse en flux appliquées à l'analyse des chloramines inorganiques ou des trihalométhanes.

Plusieurs méthodes par analyse en flux ont été développées pour les sous-produits de désinfection dans les eaux. La partie suivante présente certaines publications concernant

ces méthodes d'analyse avec quelques propriétés comme les réactifs utilisés, le mode d'analyse en flux ainsi que la limite de détection de ces méthodes.

La plupart des méthodes développées pour la détection des chloramines inorganiques sont des combinaisons du système d'analyse par injection en flux avec des réactions d'oxydo-réduction ou de dérivation suivie d'une détection spectrophotométrique. La méthode spectrophotométrique standard au DPD a ainsi été automatisée pour effectuer l'analyse du chlore libre et des chloramines. La différenciation entre le chlore libre et les espèces des chloramines inorganiques est effectuée classiquement par l'addition d'iodure de potassium [162]. Cette méthode permet d'atteindre une bonne sensibilité et un bon débit d'analyse, mais le problème de l'interférence des chloramines organiques reste un de ses points négatifs.

De nombreux réactifs ont par la suite été développés et utilisés pour le dosage du chlore libre et du chlore combiné/total. Une comparaison entre plusieurs de ces réactifs a été publiée en 2005 [163]. Les réactifs comparés étaient l'*o*-dianisidine (ODS), l'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS), la 4-nitrophénylhydrazine (4-NPH), le carmin d'indigo (IC), le méthylorange (MO), et la syringaldazine (SYR). Le Tableau 12) présente les longueurs d'onde de détection et les limites de détection obtenues pour chacun des réactifs.

Réactif	ODS	ABTS	4-NPH	MO	SYR	IC
Longueur d'onde (nm)	445	405	370	510	530	610
LOD (en mg Cl₂.L⁻¹)	0,15	0,02	3,36	1,69	0,44	2

Tableau 12. Caractéristiques analytiques du système FIA pour le chlore total selon Saad et al, 2005 [163].

De très bonnes limites de détection ont pu être obtenues (notamment avec l'ABTS), mais la différenciation entre chlore libre et chloramines inorganiques n'a pas été étudiée, et

l'applicabilité est donc limitée pour ces composés. De plus, aucun système d'analyse en flux ne permet une quantification fiable de chaque chloramine inorganique individuelle.

Concernant les THMs, deux systèmes d'analyse en flux ont déjà été présentés dans la partie I.2.3.2. qui étaient basés sur l'utilisation de la réaction de Fujiwara, et toutes deux basées sur une séparation membranaire suivie d'une réaction avec la nicotinamide à 98 °C [130, 122]. Ces deux systèmes présentent les mêmes inconvénients que les systèmes précédemment présentés: le système de séparation par membrane n'est pas commercial (fabriqué par les auteurs) et n'est donc pas facilement disponible pour les autres utilisateurs, et surtout la réaction avec la nicotinamide nécessite l'utilisation de deux bains successifs (un pour chauffer à 98 °C et l'autre pour refroidir avec un bain de glace), dispositif complexe et peu pratique pour un potentiel système d'analyse automatisé ou en ligne.

I.4. Conclusion du chapitre

La chloration de l'eau est la méthode la plus employée afin de désinfecter les eaux (potables, piscines, refroidissement industrielles et usées). En revanche, la présence des composés inorganiques et organiques dans les eaux chlorées conduit à la formation de sous-produits de désinfection toxiques et dangereux pour la santé humaine comme les chloramines inorganiques, les trihalométhanes, les acide haloacétiques et d'autres, puisque plus de 600 sous-produits de désinfection ont été identifiés.

De nombreuses méthodes ont été développées pour la détermination directe et sans interférences de la plupart de ces composés dans les eaux notamment les chloramines inorganiques et les trihalométhanes. Cependant, concernant les analyses des chloramines inorganiques dans les eaux, aucune méthode simple ne permet aujourd'hui d'analyser séparément chacune de ces espèces avec une bonne sensibilité et une bonne sélectivité, sans interférences des chloramines organiques. Il n'existe pas non plus de dispositif économique, portable qui permette d'analyser ces composés sur site.

L'analyse des trihalométhanes dans les eaux est très coûteuse et reste possible uniquement par des techniques de laboratoire, car elle basée sur l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur (MS ou ECD). La méthode

alternative utilisant la réaction de Fujiwara est complexe à mettre en œuvre du fait de la nécessité de chauffer puis de refroidir, et d'utiliser une solution alcaline concentrée pour former un dérivé.

Il est donc plus que pertinent de développer des systèmes d'analyse à bas coût, fiables, sensibles et spécifiques des trihalométhanes et des chloramines qui permettent des analyses sur site et si possible en continu, notamment pour des applications dans le domaine des eaux destinées à la consommation humaine, ou celui des eaux de piscine.

CHAPITRE II

**Analyse des chloramines et des
bromamines inorganiques dans les eaux**

CHAPITRE II : Analyse des chloramines et des bromamines inorganiques dans les eaux

II.1. Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons vu que les chloramines inorganiques (MCA, DCA et TCA) sont des sous-produits de désinfection présentant des risques pour la santé humaine, directement, ou indirectement comme précurseurs potentiels d'autres composés toxiques ou cancérigènes. Elles posent également plusieurs problèmes d'un point de vue organoleptique (odeur et goût de l'eau). Ces problèmes conduisent les législateurs à imposer des mesures pour contrôler leur présence dans les eaux. Afin d'aider à l'implémentation de réglementations, il est nécessaire de disposer d'outils analytiques pour quantifier de façon fiable ces composés dans les eaux. Pour cela, de nombreuses méthodes ont été proposées, mais la plupart de ces méthodes souffrent d'un manque de spécificité car de nombreux composés organiques peuvent interférer et donner des « faux positifs » en surestimant la présence de ces composés. Par ailleurs il existe également d'autres méthodes insuffisamment sensibles qui ne peuvent mesurer qu'une espèce de chloramine inorganique ou qui sont trop complexes et trop coûteuses pour une large utilisation [91, 14].

En présence d'ions bromure (par exemple dans les piscines alimentées en eau de mer ou dans les centres de thalassothérapie), le chlore est converti en brome et des bromamines inorganiques peuvent alors se former [21]. La distinction entre ces différentes espèces réactives (espèces chlorées/bromées globales, chlore ou brome libre/ chloramines ou bromamines inorganiques) a représenté un intérêt pour les chimistes depuis l'utilisation du chlore comme agent de désinfection. La détermination des bromamines en présence de chloramines peut être ainsi être importante car elles ont des activités de désinfection très différentes (activités germicides beaucoup plus fortes pour les bromamines). Le brome libre et les bromamines inorganiques ont des pouvoirs de désinfection similaires, mais présentent des réactivités différentes avec les composés organiques [164]. Il est

donc important de développer des méthodes de distinction simples entre ces différents composés.

Ce chapitre a pour but de présenter le développement de nouvelles méthodes d'analyse des chloramines et bromamines inorganiques dans les eaux. Un analyseur en ligne automatisé pour l'analyse des chloramines inorganiques sera tout d'abord présenté, basé sur une méthode d'analyse en flux. Cette dernière repose sur l'utilisation de la chromatographie basse pression couplée à une pompe multi-seringue, technique appelée « Chromatographie Multi-seringue » (Multi-Syringe Chromatography). Les principaux avantages de ce système sont les suivants :

- Séparation possible des trois chloramines inorganiques avec un système basse pression (<5 bars), beaucoup moins cher et plus simple qu'un système de séparation de type HPLC/UV (100-300 bars).
- Flexibilité des systèmes d'analyse en flux (ajout aisé de modules supplémentaires telle que réaction post-colonne...).
- Analyse des trois formes de chloramines inorganiques avec une bonne sensibilité et une bonne sélectivité.

Par ailleurs, une méthode colorimétrique directe basée sur l'utilisation du réactif ABTS est proposée afin de différencier certaines espèces chlorées et bromées réactives. Une optimisation des conditions réactionnelles (pH de réaction, tampon utilisé...) sera présentée afin d'obtenir une réponse sélective vis-à-vis des différentes formes chlorées et/ou bromées.

II.2. Matériels et méthodes

II.2.1. Réactifs

Tous les produits chimiques de qualité analytique ont été utilisés sans purification supplémentaire. L'eau-ultra pure a été purifiée avec un système Milli-Q (Millipore, USA, Résistivité > 18M Ω cm) et a été utilisée pour toutes les préparations de solutions.

Les solutions d'hypochlorite de sodium ont été préparées par dilution de la solution NaOCl disponible dans le commerce (Chlore actif 4,00-4,99%, Sigma-Aldrich) titrée par

dosage iodométrique [165], et stockées à 4 °C à l'abri de la lumière. La solution mère d'ammonium ($2 \text{ g}(\text{NH}_4^+).\text{L}^{-1}$) a été préparée à partir de chlorure d'ammonium (Alfa Aesar). Le bromure de potassium (Sigma-Aldrich) a été utilisé pour la préparation de la solution de brome libre.

Les solutions d'ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique, Sigma-Aldrich) ont été préparées par dissolution directe dans l'eau. Ces solutions peuvent être conservées plusieurs semaines à température ambiante dans des bouteilles en verre standards. Le tampon phosphate de sodium (Merck), le diphosphate de sodium (Acros-organics), le carbonate de sodium (Acros-organics) et l'acide 2-(N-morpholino)éthanosulfonique) MES (Sigma-Aldrich) ont été utilisés pour préparer le milieu réactionnel désiré pour le dosage des chloramines et des bromamines inorganiques. Les solutions d'OPA/Thiol ont été préparées par dissolution d'OPA (O-phthalaldéhyde, Alfa Aesar), préalablement réduit en poudre au mortier (dissolution ultérieure plus simple), dans une solution aqueuse de tampon, puis par dissolution d'acide thioglycolique (Sigma-Aldrich) dans cette solution. Ces solutions sont conservées à 4 °C et renouvelées toutes les deux semaines.

L'acétonitrile (MeCN HPLC grade, Sigma-Aldrich) et le méthanol (MeOH HPLC grade, Sigma-Aldrich) ont été utilisés comme phases organiques dans la phase mobile. Le tampon phosphate 0.01 M pH 6.9 et le tampon acétate 0.01 M pH 4.5 ont été testés comme phases aqueuses dans la phase mobile.

Pour l'étude des chloramines organiques, l'histidine, l'asparagine, la glycine (Fluka-AG, BUCHS-SG) et la chloramine T (Prolabo) ont été préparées directement dans l'eau.

L'acide formique (Fisher Chemical), l'acide sulfurique (Fisher Chemical), l'acide hydrochlorique (Sigma-Aldrich), l'acide nitrique (Fisher Chemical) ou l'hydroxyde de sodium (Sigma-Aldrich) ont été utilisés pour ajuster le pH.

II.2.2. Préparation des chloramines inorganiques

Les chloramines inorganiques ne sont pas disponibles commercialement, car elles ne sont en général pas stables et sont sensibles à la lumière [91, 95]. Les solutions standards

doivent donc être préparées quotidiennement dans des flacons en verre ambré suivant des protocoles bien précis.

Les solutions de monochloramine (MCA) ont été préparées en ajoutant lentement et sous agitation rapide 5 mL de solution d'hypochlorite de sodium (6 mM) à 5 mL de solution de chlorure d'ammonium (12 mM) dont le pH est ajusté à 9 avec de l'hydroxyde de sodium NaOH (0,1 M). Le rapport molaire azote (N) : chlore (Cl) pour la préparation de la MCA est de 2 :1 [166] et le pH final de la solution compris entre 10,5 et 11. Le flacon est conservé à 4 °C pendant 60 minutes avant dosage de la monochloramine.

Les solutions de dichloramine (DCA) ont été préparées en acidifiant la solution de monochloramine (précédemment décrite) avec de l'acide formique (0,1 M) jusqu'à pH compris entre 3,5 et 4. La solution a été agitée pendant 2 h à température ambiante en contrôlant le pH et en le réajustant entre 3,5 et 4 si nécessaire, puis conservée pendant 4 h à 4 °C avant dosage de la DCA.

Les solutions de trichloramine (TCA) ont été préparées en ajoutant lentement et sous agitation rapide 5 mL de solution d'hypochlorite de sodium (6 mM) dont le pH a été ajusté à 3 avec de l'acide sulfurique (H_2SO_4 0,5 M) à 5 mL de solution de chlorure d'ammonium (1,9 mM). Le rapport molaire azote (N) : chlore (Cl) pour la préparation de cette solution est de 1 : 3,15 [104] et le pH final de la solution compris entre 2,3 et 2,5. Le flacon est conservé à 4 °C pendant 45 minutes avant dosage de la TCA.

Des solutions mélange de mono- et de di-chloramine ont été préparées en ajoutant lentement et sous agitation rapide 5 mL de solution d'hypochlorite de sodium (6 mM) dont le pH a été équilibré à 6 avec de l'acide formique (0,1 M) à 5 mL de solution de chlorure d'ammonium (6 mM). Le rapport molaire azote (N) : chlore (Cl) pour la préparation de cette solution est de (1 : 1) et le pH final de la solution compris entre 5,2 et 5,8. Le flacon est conservé à 4 °C pendant 45 minutes avant dosage des chloramines.

Les concentrations en chloramines de chaque solution ont été déterminées par la méthode standard titrimétrique au DPD/FAS [69] qui permet de calculer les concentrations en chloramines et donc les pourcentages de conversion du réactif limitant en chloramines. Cette méthode donne des résultats fiables pour des solutions standards

de chloramine inorganique (préparées uniquement à partir d'azote ammoniacal, donc sans chloramine organique ou autre interférent potentiel).

Ce dosage titrimétrique a ainsi montré que 98 % du chlore libre était converti en monochloramine à pH compris entre 10,5 et 11 après 60 min d'attente, et 95 % en DCA à pH compris entre 3,5 et 4 après un temps d'attente de 6 h.

En ce qui concerne les solutions de trichloramine (TCA), différentes méthodes de préparation publiées dans la littérature ont été testées. Le rapport molaire azote (N) : chlore (Cl) est généralement de (1 : 3) ou (1 : 3,15) avec un pH acide compris entre 2,3 et 2,8, mais la durée de la réaction proposée varie considérablement, de 1 heure à 1 semaine [88]. Toutes les méthodes testées ont conduit à la présence de chlore libre et de dichloramine (DCA) dans les solutions étalons de TCA, même à haut rapport molaire azote (N) : chlore (Cl) comme cela a été proposé par certaines publications [50].

Les solutions standards de TCA ont donc été préparées suivant la méthode décrite ci-dessus. Le dosage titrimétrique régulier sur plusieurs heures a montré la présence de DCA et TCA dès les premières minutes, avec une stabilisation de la concentration en TCA à partir de 45 min jusqu'à 6 h (durée à partir de laquelle on observe une légère baisse de la concentration en TCA et une augmentation de la concentration en DCA (Figure 18).

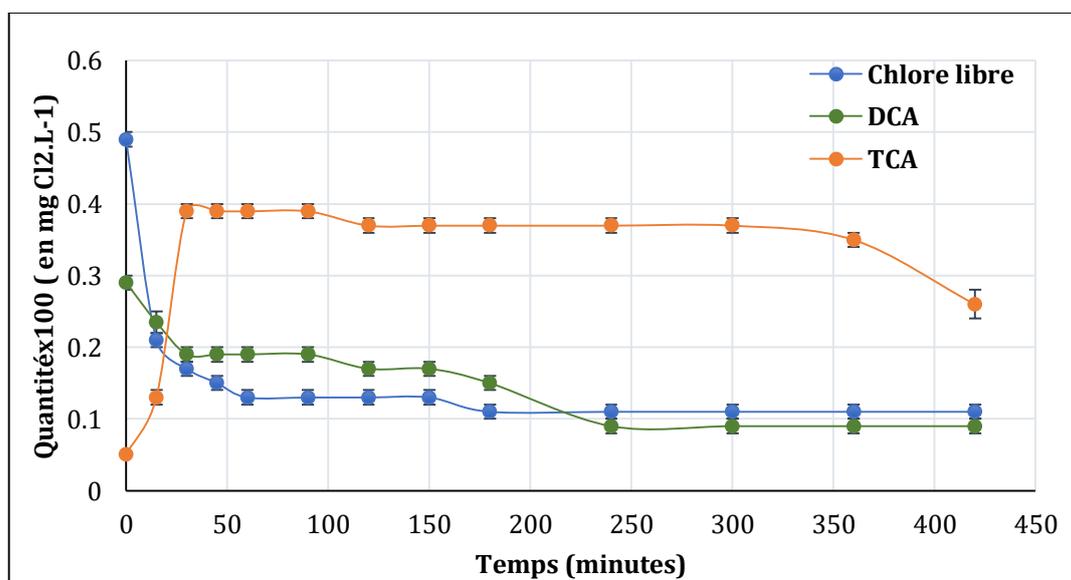


Figure 18. Cinétique de la formation de la trichloramine préparée avec un rapport molaire N : C = 1 : 3,15 pendant 400 minutes. Solution mère diluée 100 fois.

Le rendement maximal de conversion de l'azote en TCA est en général autour de 10%, ceci pouvant être expliqué par la formation de DCA, la volatilité de la TCA et la formation du diazote N₂ pour des rapports Cl/N élevés [167].

La composition des solutions standards de chloramines peut aussi être déterminée par spectrophotométrie UV directe. De nombreuses études ont présenté les caractéristiques spectrales d'absorption des chloramines inorganiques [14][167]. Celles-ci sont présentées dans le Tableau 13 et sur la Figure 19.

Composé	Longueur d'onde λ (nm)		
	221	245	295
NH ₂ Cl	-	445	14
NHCl ₂	1200	208	267
NCl ₃	8200	-	190

Tableau 13. Absorptivités molaires (en M⁻¹.cm⁻¹) des chloramines inorganiques selon Schreiber et al, 2005 [50].

La MCA et la DCA présentent donc des pics caractéristiques respectivement à 245 nm et 295 nm (avec également une forte absorptivité de la dichloramine à 221 nm, moins spécifique). La trichloramine présente une très forte absorptivité à 221 nm, et un pic d'intensité plus faible mais plus caractéristique à 336 nm.

La méthode par dosage spectrophotométrique repose sur la résolution d'équation à deux inconnues. Par exemple pour un mélange MCA-DCA, le système d'équation suivant est utilisé pour doser les deux espèces [50], avec A étant la valeur de l'absorbance à la longueur d'onde spécifiée, ε le coefficient d'extinction molaire (ou absorptivité molaire) à cette même longueur d'onde, C la concentration en espèces de chloramines et l la longueur du trajet optique :

$$A_{245} = \epsilon_{\text{NH}_2\text{Cl},245} C_{\text{NH}_2\text{Cl},245} l + \epsilon_{\text{NHCl}_2,245} C_{\text{NHCl}_2,245} l$$

$$A_{295} = \epsilon_{\text{NH}_2\text{Cl},295} C_{\text{NH}_2\text{Cl},295} l + \epsilon_{\text{NHCl}_2,295} C_{\text{NHCl}_2,295} l$$

Cette méthode a été comparée à la méthode par titrimétrie DPD/FAS, elle a donné de bons résultats pour les solutions de MCA et DCA et pour les mélanges MCA-DCA, mais est inutilisable pour les solutions de TCA car elles contiennent également du chlore libre et de la DCA, ces systèmes d'équations n'étant pas compatibles avec des solutions contenant trois espèces.

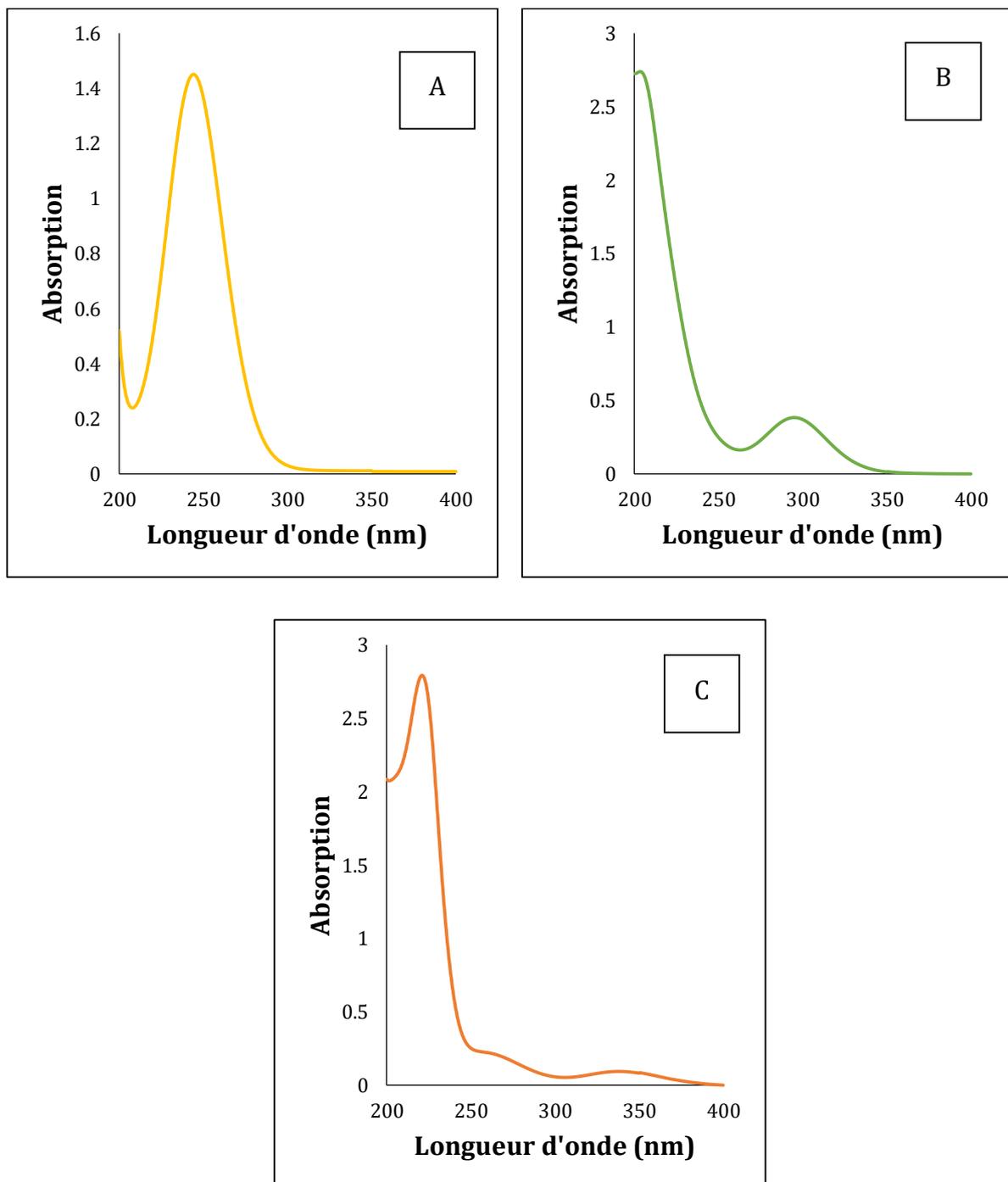


Figure 19. Spectres d'absorption UV des standards de chloramines inorganiques préparées selon nos méthodes. A. MCA ($1.5 \times 10^{-3} \text{M}$), B. DCA ($1.2 \times 10^{-3} \text{M}$) et C. TCA (10^{-4}M).

II.2.3. Préparation des bromamines inorganiques

Comme les chloramines inorganiques, les bromamines ne sont pas disponibles commercialement et il est donc nécessaire de les préparer juste avant l'analyse, la formation de ces composés dépend aussi du rapport molaire brome/ azote et du pH comme l'indique le diagramme de prédominance des espèces bromées dans la partie I.1.2 sur la formation et la spéciation de ces espèces [168, 169].

Tout d'abord, une solution d'hypobromite de sodium NaOBr a été préparée chaque semaine en ajoutant 10 mL de solution d'hypochlorite (100 mM) à 10 mL de NaBr (120 mM) dans du tampon phosphate 10 mM à pH 11 [170]. La concentration de brome libre dans la solution préparée a été déterminée par spectrophotométrie en mesurant l'absorbance à 320 nm (absorptivité molaire $\epsilon = 332 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 320 nm [19]).

Les solutions de monobromamine (NH_2Br) ont été préparées en utilisant un rapport molaire azote (N) sur brome (Br) égal à 80 et un pH ajusté à 10 avec NaOH 0,1M.

Les solutions de dibromamine (NHBr_2) ont été préparées en utilisant un rapport molaire azote (N) sur brome (Br) égal à 10 et un pH ajusté à 6 avec NaOH 0,1M ou HCl 0,1M.

Les solutions de tribromamine (NBr_3) ont été préparées en utilisant un rapport molaire azote (N) sur brome (Br) égal à 0,4 et un pH ajusté à 4,5 avec HCl 0,1M.

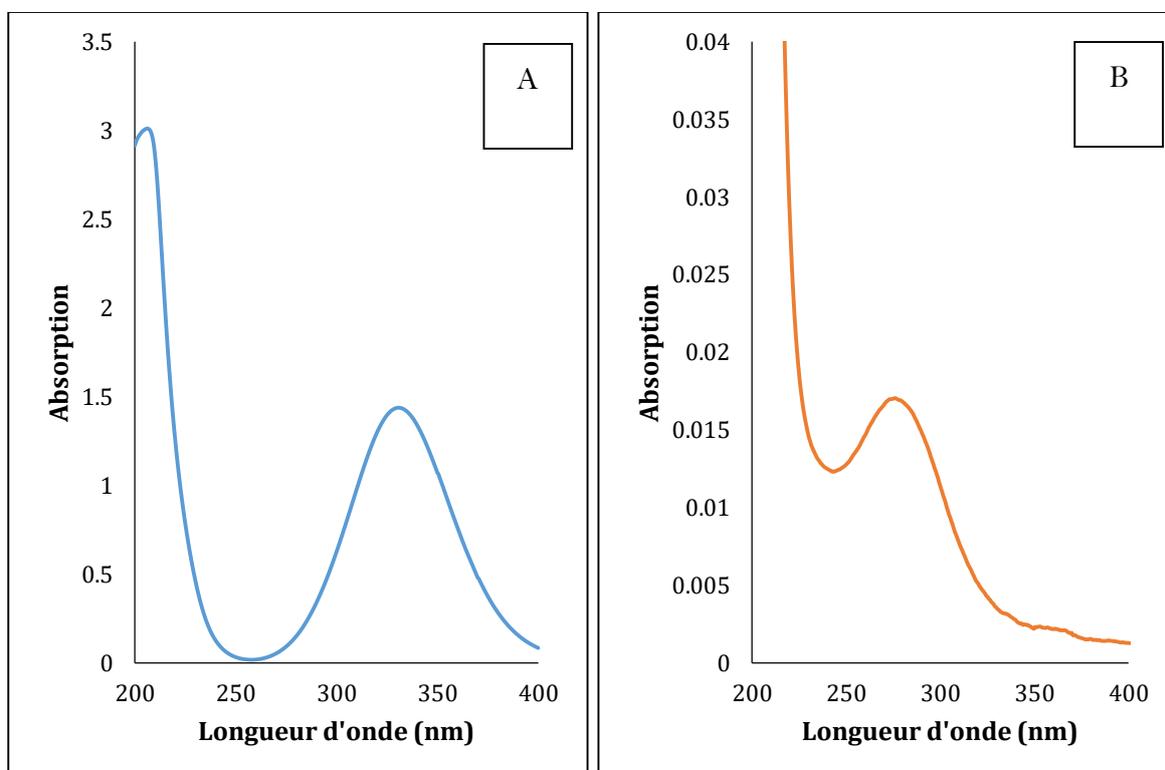
Les solutions de la bromochloramine (NHBrCl) ont été préparées en ajoutant une solution de l'hypobromite de sodium diluée dans du tampon phosphate 0,01M pH 6 à une solution de MCA diluée dans un tampon phosphate à pH 6 en utilisant un rapport molaire (HOBr) : (MCA) égale à 10 [171].

De la même manière que pour les chloramines inorganiques, de nombreuses études présentent les caractéristiques spectrales d'absorption des bromamines inorganiques en précisant les longueurs d'ondes maximales spécifiques. La longueur d'onde maximale spécifique de chaque espèce est de 278 nm pour la monobromamine, 232 nm pour la dibromamine et 258 nm pour la tribromamine [172]. Le Tableau 14 présente les coefficients d'extinction des bromamines inorganiques aux différentes longueurs d'onde étudiées [19] :

Composé	Longueur d'onde λ (nm)		
	232	258	278
NH ₂ Br	82	273	425
NHBr ₂	2000	884	715
NBr ₃	3810	5000	1400

Tableau 14. Absorptivités molaires (en M⁻¹.cm⁻¹) des bromamines inorganiques selon Lei et al, 2004 [19].

L'analyse par spectrophotométrie des solutions de bromamines inorganiques préparées a fourni les spectres présentés dans les graphiques de la Figure 20. Ces spectres présentent bien les longueurs d'ondes caractéristiques des différentes espèces présentées dans le tableau précédent. Les différentes espèces de bromamines étaient donc bien majoritaires dans les solutions préparées, et la méthode de dosage spectrophotométrique en utilisant le système d'équations à deux inconnues a été utilisée pour calculer la concentration de chaque espèce dans la solution préparée.



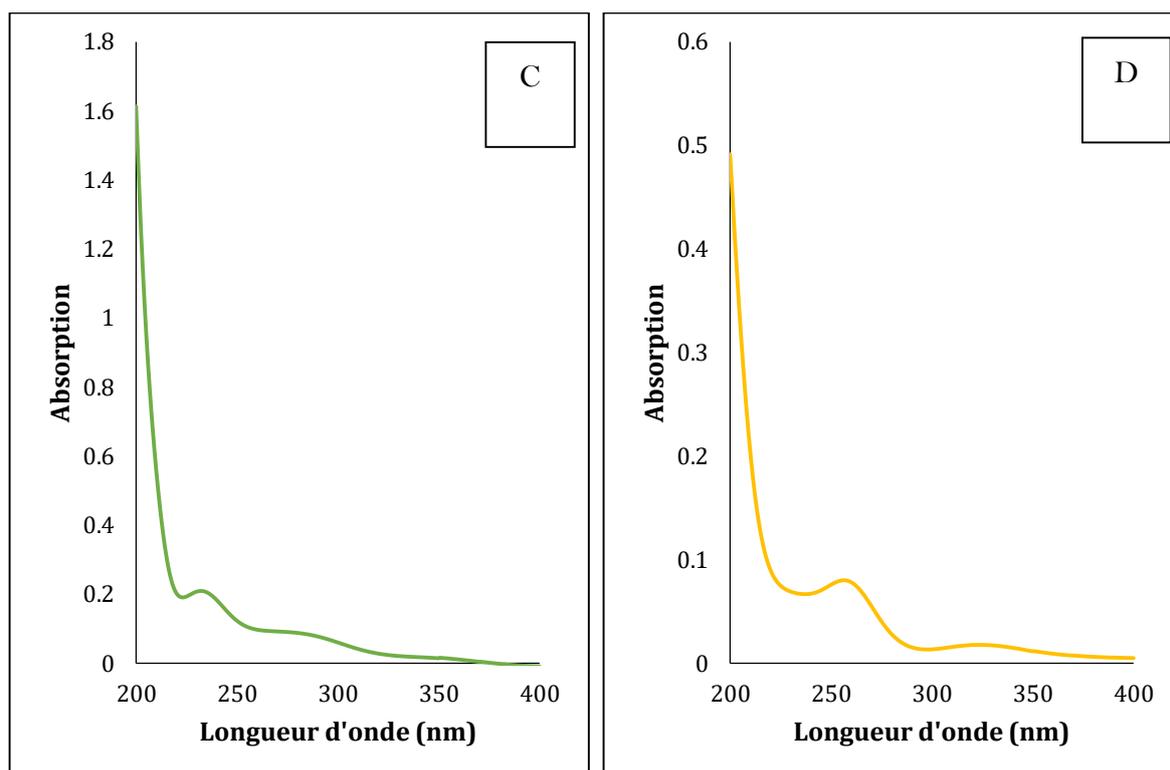


Figure 20. Spectres d'absorption UV des standards d'espèces bromées réactives. A. HOBr ($4 \times 10^{-4} \text{M}$), B. monobromamine ($6.64 \times 10^{-5} \text{M}$), C. dibromamine ($3.8 \times 10^{-5} \text{M}$) et D. tribromamine ($5.83 \times 10^{-5} \text{M}$).

L'analyse de la solution de NHBrCl a été effectuée selon la méthode décrite dans les publications [171,173], en utilisant les deux équations à deux inconnues pour les deux coefficients d'extinction à 243 nm (MCA) et à 320 nm (NHBrCl). Ces caractéristiques sont présentées dans le Tableau 15 suivant :

Composé	Longueur d'onde λ (nm)	
	243	320
NH ₂ Cl (MCA)	461	7
NHBrCl	500	300

Tableau 15. Absorptivités molaires (en $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) de la MCA et de NHBrCl selon Allard et al, 2018 [171].

II.2.4. Analyse par HPLC avec détection directe

Dans un premier temps, la séparation des chloramines inorganiques a été étudiée et optimisée en utilisant un système HPLC (Chromatographie liquide à haute performance) classique composé d'un échantillonneur automatique L-2200, d'une pompe L-2130, et d'un détecteur L-2400 (Système Hitachi Elite LaChrom, Tokyo, Japon). Deux colonnes ont été testées pour étudier la séparation des chloramines inorganiques : une colonne particulière HPLC, Alltima® HP C18-EPS, 5µm (250mm x4,6 mm, Alltech®, Allemagne) et une colonne monolithique RP-18 Onyx™ (25 mmx 4,6 mm, Merck, Allemagne).

Les longueurs d'onde pour la détection des chloramines ont été fixées selon : pour la MCA à 245 nm, pour la DCA à 295 nm, pour la TCA à 220 nm et pour le mélange MCA+DCA à 210 nm ; le volume de l'échantillon injecté a été fixé à 20 µL.

II.2.5. Spectrophotométrie UV et spectroscopie de fluorescence en microplaques.

Plusieurs outils analytiques ont été utilisés durant le développement du procédé en ligne pour analyser les chloramines inorganiques dans les eaux.

Un spectrophotomètre UV-visible (Jasco V-670) piloté avec le logiciel (Spectra-Manager) et des cellules en quartz de 10 mm de longueur de trajet optique ont permis d'étudier la réaction colorimétrique entre les chloramines, les bromamines inorganiques et l'ABTS. L'absorbance du produit formé a été mesurée entre 380 et 880 nm, pour un temps d'analyse total pour chaque échantillon de 2 minutes.

Les mesures de fluorescence en microplaque ont été effectués sur un lecteur microplaque (Infinite M200, Tecan France SAS, France) contrôlé par le logiciel i-control™ (Tecan). Ce lecteur a permis de mesurer la fluorescence induite par la réaction entre les chloramines, les bromamines inorganiques et l'OPA/Thiol. Cette technique a été utilisée afin de réduire la consommation de produits chimique, en utilisant une microplaque noire composée de 96 puits (8 lignes x 12 colonnes) de 400 µL, comme présenté dans la Figure 21.

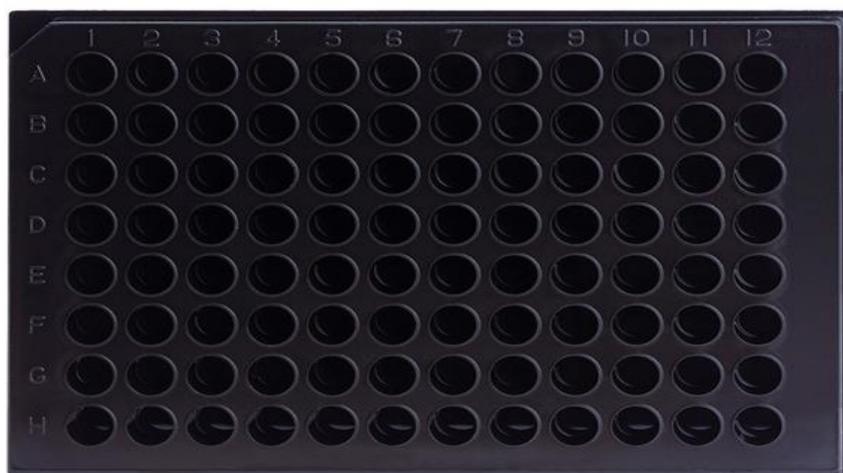


Figure 21. Microplaque noire (Perkin Elmer) à fond plat de volume interne 400 μ L utilisée pour l'étude de la réaction de fluorescence.

II.2.6. Instrumentation pour le système de chromatographie multi-seringues

Les modules utilisés pour concevoir le système d'analyse en flux sont :

- une pompe multi-seringue (BU-4-S, Crison Instruments, Alella, Barcelone, Espagne)
- des seringues (Hamilton, Bonaduz, Suisse)
- une colonne Monolithique Oynx™ (25mm x 4,6 mm, Merck, Allemagne)
- des valves solénoïdes (Sciware, Plama de Mallorca, Espagne)
- une pompe solénoïde (Takasago MTV-3-1/4UKGH, Takasago, Japon)
- des tubes en poly-tétrafluoroéthylène (PTFE)
- une valve d'injection à 6 ports (Crison)
- une micro-pompe (Bio-chem, Boonton, NJ, USA)
- un mélangeur en T (Peek, Interchim, France)
- un système de détection composé d'une source de lumière UV (sources de lumière Halogène DH-2000 deutérium-Tungstène, Longueur d'onde 215-2000nm, Ocean Optics, Dunedin, FL, US)
- une cellule de mesure en Peek (longueur 50 mm, volume interne 130 μ L)

- un spectromètre miniature à fibres optiques USB 2000 (longueur d'onde : 200-1100nm, Ocean Optics) connecté à l'ordinateur et piloté par le logiciel Autoanalysis (Sciware, Spain)
- un détecteur de fluorescence (RF 2000, Dionex Softron GmbH, Allemagne) connecté à l'ordinateur et permettant de récupérer les données via le logiciel ChromNAV control center et l'interface Jasco LC- Net II/ADC (Japon).

II.3. Développement de l'analyseur de type Chromatographie Multi-seringues

II.3.1. Principe du système

Le but principal du développement de ce système est de permettre la détermination de chaque chloramine inorganique en surmontant tous les problèmes des autres méthodes déjà évoquées précédemment et aboutir à un système simple, sélectif, sensible et à bas coût.

De plus, le principe du système repose sur l'utilisation d'un système chromatographique basse pression permettant de séparer les chloramines inorganiques couplée à une analyse par injection en flux. Ce système permet de minimiser la taille, et le coût par rapport à un système chromatographique classique. Cette étape a été optimisée en étudiant les meilleurs compromis entre nature de la colonne monolithique, nature de la phase mobile et débit d'élution.

Toutefois, cette étape de séparation seule n'est pas suffisante pour assurer une bonne sensibilité, d'où l'idée de coupler cette séparation des chloramines inorganiques à une deuxième étape post-colonne (après la séparation) de dérivation chimique, avec un réactif spécifique pouvant réagir avec les trois chloramines inorganiques dans les mêmes conditions chimiques pour ne former qu'un seul produit détectable en une seule étape (pour ne pas modifier les conditions opératoires de détection en fonction de chaque chloramine). Cette réaction a été optimisée en choisissant le réactif et par suite en étudiant les conditions optimales entre les chloramines inorganiques et ce réactif afin d'obtenir une réaction quantitative et rapide.

Finalement, le protocole d'analyse repose donc sur une séparation des chloramines inorganiques sur colonne monolithique basse pression, suivie d'une étape post-colonne de dérivation chimique. L'ensemble du dispositif utilise une pompe multi-seringue permettant une analyse par injection en flux (MSFIA) à l'aide d'une vanne d'injection à 6 voies comme présenté dans le schéma présenté dans la Figure 22.

Le protocole comprend quatre étapes essentielles :

- (1) L'injection de l'échantillon à l'aide d'une micro-pompe puis l'introduction de cet échantillon vers la colonne via la vanne d'injection à 6 voies.
- (2) La séparation des chloramines inorganiques par injection de la phase mobile via la multi-seringue à travers la colonne monolithique par commutation de la vanne d'injection.
- (3) L'introduction du réactif de dérivation à l'aide de la multi-seringue en sortie de colonne permet de dériver les chloramines préalablement séparées au sein d'un mini-mélangeur en forme de T.
- (4) La détection du produit formé et la quantification de chaque chloramine inorganique séparément.

Ce dispositif est appelé « système d'analyse chromatographique multi-seringue (MSC) pour l'analyse des chloramines inorganiques dans les eaux ».

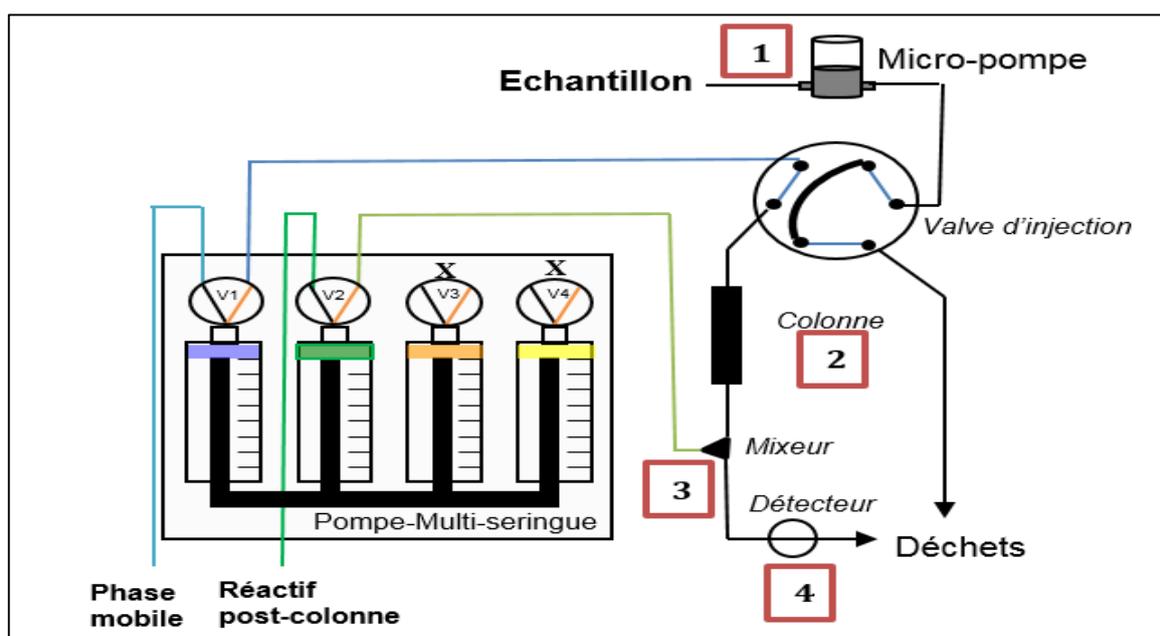


Figure 22. Schéma descriptif général du système d'analyse chromatographique multi-seringues (MSC) pour l'analyse des chloramines inorganiques.

II.3.2. Optimisations préalables au développement de l'analyseur : séparation et détection des chloramines inorganiques

Plusieurs étapes d'optimisation étaient nécessaires avant le début du développement instrumental du système d'analyse en flux avec séparation basse pression. Ces étapes ont été effectuées en utilisant des instruments indépendants du système d'analyse en flux final et facilement utilisables pour les premières expériences de cette étude. Elles ont concerné d'une part les premiers tests de séparation des chloramines inorganiques sur un système de chromatographie haute-pression standard, et d'autre part la mise au point des conditions de détection des chloramines inorganiques, dans le but d'appliquer ces conditions comme réaction post-colonne sur le système d'analyse final.

II.3.2.1. Etude de la séparation des chloramines inorganiques par HPLC

Les seules études de séparation des chloramines inorganiques publiées jusqu'à maintenant ont été effectuées en utilisant des systèmes de chromatographie liquide à haute performance (HPLC/UV) et des colonnes particulières adaptées aux séparations haute-pression [89, 90]. Les premiers tests de séparation de nos composés ont donc été effectués avec des conditions expérimentales similaires en utilisant un système HPLC standard (avec détection directe par spectrophotométrie UV) et facile à utiliser sans optimisation instrumentale particulière. Deux types de colonnes de séparation de type C18 ont été utilisées : une colonne particulière de 25 cm (utilisable uniquement à haute pression jusqu'à 300 bars, avec temps d'analyse peut être résumé en 30-40 minutes) et une colonne monolithique de 2,5 cm (utilisable à basse pression, avec temps d'analyse peut être résumé en 3-4 minutes). Le but était de comparer les résultats obtenus avec les deux types de colonne et d'évaluer les performances des colonnes monolithiques, seules colonnes pouvant être utilisées par la suite sur un système d'analyse en flux basse pression.

Pour cela, la séparation des chloramines inorganiques a été effectuée en optimisant principalement la composition de la phase mobile. Durant cette étape, plusieurs phases mobiles ont été testées : des tampons à pH différents (phosphate, acétate), des mélanges de phase organique (méthanol MeOH, acétonitrile MeCN) avec la phase aqueuse (tous les tampons testés) ou avec de l'eau ultrapure au lieu des tampons.

Les résultats de cette comparaison sont présentés dans le Tableau 16. Un mode isocratique a été utilisé dans le but d'anticiper l'application future aux systèmes d'analyse en flux, car les gradients d'élution sont difficiles à mettre en œuvre sur de tels systèmes [174]. Dans cette étude comparative, le pourcentage de solvant organique a été fixé à 25%, taux résultant de notre étude bibliographique et des premiers tests effectués sur notre propre système HPLC/UV. La séparation de la MCA et de la DCA a été étudiée sur un mélange MCA-DCA avec une longueur d'onde de détection de 210 nm (compromis pour la MCA et la DCA). La TCA a été étudiée en fixant la longueur d'onde de détection à 221 nm (optimale pour la TCA). Le débit de la phase mobile a été fixé à 1 mL.min⁻¹. Le Tableau 16 présente pour chaque condition opératoire (colonne et composition de la phase mobile) les temps de rétention obtenus pour chaque composé et la résolution calculée pour les deux composés les plus proches (MCA et DCA), la TCA étant toujours bien séparée.

Phase Mobile Ø Organique 25% _Ø Aqueuse 75%	<u>Colonne particulaire</u>				<u>Colonne monolithique</u>			
	MCA	DCA	R	TCA	MCA	DCA	R	TCA
Pression	186 bars				12 bars			
MeOH- Phosphate	4,7	10,5	18,8	36,6	0,51	0,76	2,01	3,19
MeOH- Acétate	4,6	9,8	17,6	36,2	0,51	0,80	2,1	3,32
MeOH- Eau	4,7	8,9	16,2	32,6	0,51	0,75	2,01	3,17
Pression	145 bars				8 bars			
MeCN- Phosphate	4,3	9,8	17,9	35,2	0,51	0,81	2,1	2,5
MeCN -Acétate	4,3	9,6	17,8	24,8	0,51	0,84	2,2	2,5
MeCN - Eau	3,3	6,5	14,2	28,4	0,51	0,80	2,1	2,5

Tableau 16. Paramètres obtenus (temps de rétention et résolution) en fonction de différentes phases mobiles testées lors l'optimisation de la séparation des chloramines inorganiques avec les deux colonnes à débit 1 mL.min⁻¹, avec R : résolution entre le pic MCA et DCA.

Les résultats dans ce Tableau 16 pour les deux colonnes testées, montrent que l'introduction de la phase organique dans la phase mobile (quelle que soit la phase organique MeOH ou MeCN) conduit à éluer les trois chloramines inorganiques en des temps de rétention comparables. La résolution des pics chromatographiques est excellente pour l'ensemble des composés sur la colonne particulaire, et reste suffisante lors de l'utilisation de la colonne monolithique ($R > 2$) ; pour cette dernière colonne, la résolution est tout de même meilleure lorsque l'acétonitrile à 25% est utilisé.

En ce qui concernent les temps de rétention (et donc d'analyse), le gain est important lorsque la colonne monolithique est utilisée : 3 à 4 minutes à basse pression (colonne monolithique), contre 30 à 40 minutes à haute pression (colonne particulaire).

Toutefois, ces essais ont également montré que le chlore libre et la monochloramine sont très peu retenues et ont des temps de rétention identiques sur ces colonnes (coélution), quelles que soient les conditions utilisées.

À la suite de ces premiers essais comparatifs, la séparation des chloramines inorganiques sur colonne monolithique a été optimisée avec le système HPLC/UV. L'utilisation de méthanol dans la phase mobile a généré une surpression (due à sa viscosité), ce qui interdit son utilisation future dans un système de séparation basse pression. C'est donc l'acétonitrile qui a été retenue comme phase organique d'élution pour ces expériences d'optimisation. Concernant la phase aqueuse, l'utilisation de solutions tampon telles que celles décrites dans les études précédentes [89, 90] a été abandonnée car l'ajout de ces tampons n'a pas montré d'influence significative sur la séparation des espèces (voir Tableau 16); de plus, leur utilisation pourrait déplacer les équilibres entre chloramines pendant la séparation sur la colonne, ce qui est à éviter absolument.

Le débit de la phase mobile a été diminué à 0,5 mL.min⁻¹ pour maintenir des pressions faibles (<5-6 bars, limite de compatibilité du système basse pression envisagé).

Le Tableau 17 présente les temps de rétention et les résolutions calculées entre le pic de MCA et de DCA pour différents pourcentages de phase organique (acétonitrile) dans la phase mobile.

Ø Organique X% - Ø Aqueuse Y%	MCA	DCA	TCA	R (MCA-DCA)
Acétonitrile 10%- Eau 90%	1,10	1,86	8,84	2,52
Acétonitrile 20%- Eau 80%	1,09	1,68	6,17	2,29
Acétonitrile 25%- Eau 75%	1,07	1,60	5,02	2,15
Acétonitrile 30%- Eau 70%	1,04	1,53	4,30	1,81
Acétonitrile 40%- Eau 80%	1,01	1,30	2,90	0,91
Acétonitrile 50%- Eau 50%	1,00	1,25	1,82	0,85

Tableau 17. Paramètres obtenus (temps de rétention en minutes et résolution) des chloramines inorganiques lors de l'optimisation de la composition de la phase mobile (MeCN-Eau), à débit : 0,5 mL.min⁻¹, avec la colonne monolithique.

Au vu des résultats présentés dans le Tableau 17, la phase mobile idéale serait celle contenant 20% d'acétonitrile. Celle-ci permettrait selon nous le meilleur compromis

entre la résolution MCA-DCA et le temps d'analyse global (dépendant du temps de rétention de la TCA) (Figure 23). La résolution entre les deux pics les plus proches (MCA et DCA) est supérieure à 2 et est donc satisfaisante (l'ajout d'une étape de réaction post-colonne risque d'entraîner une diminution de la résolution), avec un temps d'analyse global inférieur à 8 minutes.

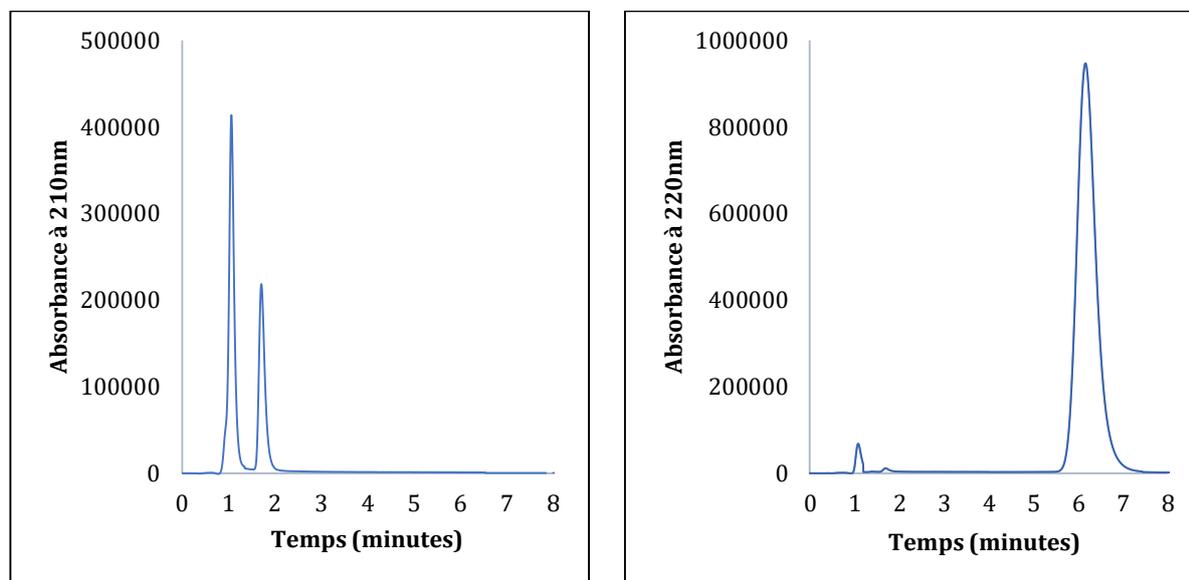


Figure 23. Chromatogrammes obtenus lors de la séparation du mélange MCA/DCA à 210 nm (à gauche) et TCA à 220 nm (à droite), en utilisant la colonne monolithique, phase mobile : acétonitrile 20% - Eau 80%, Débit 0,5 mL.min⁻¹, pression 5 bars.

II.3.2.2. Détection des chloramines inorganiques

La deuxième étape indispensable pour permettre l'analyse des chloramines est la mise au point de la réaction de dérivation post-colonne qui va permettre d'augmenter significativement la sensibilité et la sélectivité de la méthode par rapport à une détection directe par spectrophotométrie UV. Cette étape doit répondre à plusieurs critères :

- Le réactif de détection doit être commercial et son coût doit être faible à modéré.
- La réaction doit être rapide (pour ne pas diminuer la résolution).
- La réaction doit être sélective par rapport aux autres espèces chlorées (notamment par rapport au chlore libre, aux chloramines organiques ou aux autres sous-produits de désinfection).
- La détection doit être la plus sensible possible.

Deux réactifs ont été choisis à la suite de notre recherche bibliographique pour étudier la réaction de détection des chloramines. Le premier réactif est l'ABTS qui a été déjà testé pour l'analyse du chlore libre ou de la monochloramine [83], et également pour l'analyse séparée de la trichloramine après dégazage [88]. Le second réactif testé est l'OPA qui est utilisé pour la quantification de l'ammoniaque dans les eaux ; ce dernier n'a toutefois jamais été utilisé pour l'analyse des chloramines inorganiques [175].

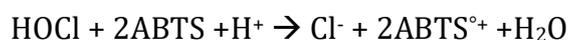
II.3.2.2.1. Détection avec l'ABTS

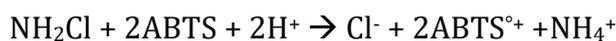
L'acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) a été choisi comme réactif de détection car il est connu pour réagir avec les espèces réactives chlorées et bromées en basant sur les propriétés du potentiel standard présente dans le tableau suivant :

Equation	E°(v)	Références
$\text{NH}_2\text{Cl} + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Cl}^- + \text{NH}_4^+$	1.527	[22]
$\text{HOCl} + 2\text{e}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Cl}^- + \text{H}_2\text{O}$	1.494	[22]
$\text{NHCl}_2 + 4\text{e}^- + 3\text{H}^+ \rightleftharpoons 2\text{Cl}^- + \text{NH}_4^+$	1.428	[22]
$\text{NCl}_3 + 6\text{e}^- + 4\text{H}^+ \rightleftharpoons 3\text{Cl}^- + \text{NH}_4^+$	1.407	[22]
$\text{NH}_2\text{Br} + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Br}^- + \text{NH}_4^+$	1.382	[22]
$\text{HOBr} + 2\text{e}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Br}^- + \text{H}_2\text{O}$	1.34	[22]
$\text{NHBBr}_2 + 4\text{e}^- + 3\text{H}^+ \rightleftharpoons 2\text{Br}^- + \text{NH}_4^+$	1.265	[22]
$\text{NBr}_3 + 6\text{e}^- + 4\text{H}^+ \rightleftharpoons 3\text{Br}^- + \text{NH}_4^+$	1.239	[22]
$\text{ABTS} \rightleftharpoons \text{ABTS}^{\circ+} + \text{e}^-$	0.68	[176]

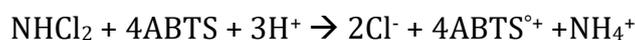
Tableau 18. Le potentiel standard des espèces chlorés et bromés actifs.

La réaction entre le chlore libre, la monochloramine et l'ABTS a été décrite selon les équations suivantes [83] :





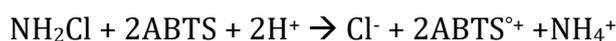
En outre, la réaction entre la dichloramine et la trichloramine avec l'ABTS peut se décrire comme la réaction entre la dibromamine et la tribromamine avec l'ABTS, selon les équations suivantes :



Dans le travail décrit ici, la réaction de l'ensemble des chloramines inorganiques (MCA, DCA et TCA) et du chlore libre a été étudiée pour la première fois en fonction des conditions réactionnelles (pH, tampon, cinétique de réactions...). Les standards de chloramines ont été préparés à des concentrations initiales de 10^{-5} mol.L⁻¹ et différents tampons phosphates à 0,01 M ont été testés dans une gamme de pH entre 1,5 et 7. L'ABTS a été introduit en excès par rapport aux chloramines (ABTS à 250 μM) et le produit de la réaction a été détecté à 405 nm (coloration verte du milieu réactionnel).

Les conditions expérimentales d'étude de cette réaction étaient : 1 mL de tampon phosphate (10 mM) ajouté à 1 mL d'ABTS, puis ajout de 1 mL de la solution à analyser (chlore libre ou chloramines inorganiques). La concentration de l'ABTS^{°+} expérimental formé a été calculé selon la loi de Beer Lambert : $A = \epsilon.l.c$, avec A correspondant à la mesure de l'absorbance obtenue par le spectrophotomètre à 405 nm, ϵ à 405 nm = 31600 M⁻¹.cm⁻¹ et $l = 1$ cm.

Par exemple, 1 mL d'une solution de MCA ajouté à 2 mL de solution d'ABTS et de tampon conduit à une concentration de MCA égale à $3,33 \times 10^{-6}$ M, donc pour calculer la concentration théorique de l'ABTS^{°+} formé, on utilise l'équation de la réaction entre MCA et ABTS :



Selon le coefficient stœchiométrique de cette équation, la concentration théorique de l'ABTS^{°+} est égale à ($3,33 \times 10^{-6} \times 2 = 6,66 \mu\text{M}$), ce qui conduit à une absorbance théorique de 0,21 selon la loi de Beer Lambert (correspond donc à une conversion de 100% de la MCA en ABTS^{°+}). Un raisonnement similaire est effectué pour la DCA, en prenant en

compte un coefficient stœchiométrique de 4 pour la réaction de la DCA avec l'ABTS (voir équation précédente). En ce qui concerne le calcul pour l'ABTS^{°+} formé lors de la réaction avec la solution de la trichloramine, trois espèces sont présentes dans les solutions standards : chlore libre, DCA et TCA. L'absorbance finale mesurée après réaction avec l'ABTS correspond au total de ces espèces, en utilisant un coefficient stœchiométrique de 2 pour le chlore, 4 pour la DCA et 6 pour la TCA. Connaissant la composition de la solution standard de TCA (donc la concentration de chlore libre et de DCA), ainsi que les rendements de conversion de ces deux espèces, il est alors possible de calculer le rendement de conversion de la TCA à partir de l'absorbance finale mesurée.

Les résultats présentés dans le Tableau 18 sont les rendements de conversion de l'espèce chlorée en ABTS^{°+}, calculés à partir de l'absorbance expérimentale obtenue et de l'absorbance théorique calculée en supposant des réactions totales. Les résultats dans ce Tableau 18 ont montré que la formation du produit ABTS^{°+} est privilégiée à pH acide. Aucune espèce chlorée ne réagit avec l'ABTS à pH supérieur à 4,5. L'ensemble des espèces réagissent pour des pH inférieurs à 2,5, mais la cinétique de réaction de la dichloramine reste lente même à pH 1,5 (seule la moitié de la dichloramine est transformée en ABTS^{°+} après 60 minutes).

Tampon	Chlore libre		MCA		DCA		TCA	
	Rendement	Temps	Rendement	Temps	Rendement	Temps	Rendement	Temps
pH 1,5	100%	2min	100%	2min	50%	60min	60-70%	2min
pH 2,5	100%	2min	98%	2min	50%	60min	50-60%	2min
pH 3,5	-	-	-	-	-	-	30%	2min

Tableau 19. Rendement de conversion du chlore libre et des chloramines avec l'ABTS en fonction du pH du tampon phosphate (0,01 M). Expérience : 1 mL ABTS 250 µM + 1 mL Tampon 10 mM + 1 mL échantillon à 10⁻⁵ mol.L⁻¹ pendant 2 minutes.

Afin d'améliorer les rendements obtenus (notamment pour la DCA et la TCA), nous avons décidé tout d'abord d'ajouter un catalyseur (iodure de potassium) au tampon phosphate,

comme cela avait été décrit dans les travaux de Pinkernell et al. [83]. Ceci a effectivement permis d'améliorer les rendements (seule la DCA présentait un rendement non quantitatif de 80% après une minute), mais cette voie a été abandonnée car elle risquait de nuire à la sélectivité de la réaction pour les chloramines inorganiques (les chloramines organiques sont en général également réactives en présence d'ions iodures).

Nous avons donc décidé de faire des tests en remplaçant le tampon phosphate par un acide fort permettant de travailler à pH plus acide. Trois acides ont été testés : l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique et l'acide nitrique.

Les résultats sont présentés dans la Figure 24 pour une solution de DCA à 10^{-5} M (l'absorbance théorique attendue est de 0,42 pour la formation quantitative de $\text{ABTS}^{\circ+}$). L'acide chlorhydrique a été l'acide donnant les meilleurs rendements de conversion pour la DCA (100 %).

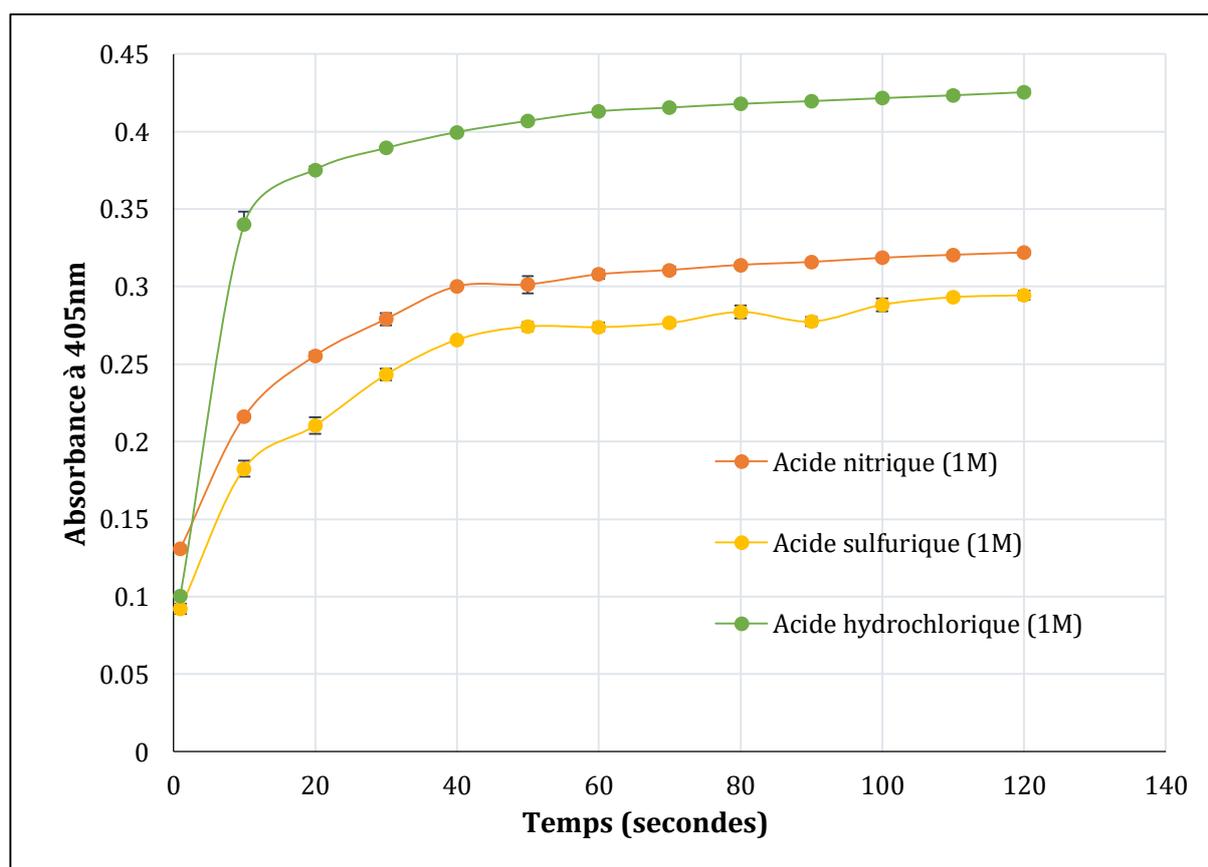


Figure 24. Cinétique de l'absorbance à 405nm de l'ABTS^{°+} formé en fonction de l'acide ajouté. Expérience : 1 mL ABTS 250 μM + 1 mL acide + 1 mL DCA 10^{-5} mol (DCA).L⁻¹ pendant 2 minutes.

Une optimisation fine de la concentration d'acide chlorhydrique a été effectuée, par des essais avec des concentrations comprises entre 0,2 M et 1 M (Figure 25). L'acide chlorhydrique à 0,8 M a ainsi été choisi afin d'obtenir une réaction totale réalisable en 30 secondes.

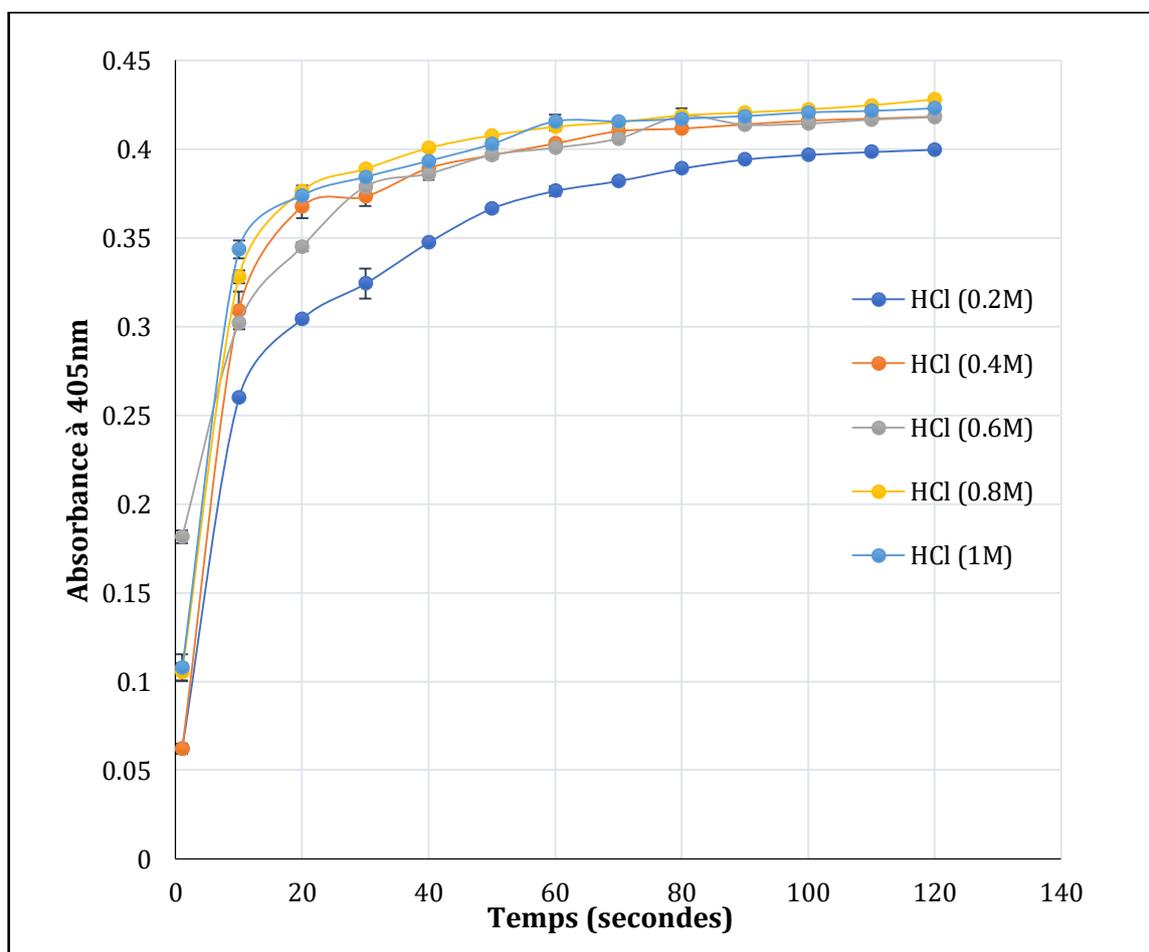


Figure 25. Cinétique de l'absorbance à 405nm de l'ABTS°+ en fonction de l'acide hydrochlorique de 0,2 à 1 M. Expérience : 1 mL ABTS 250 μ M + 1 mL acide + 1 mL DCA 10^{-5} mol (DCA).L⁻¹.

Des résultats similaires ont été obtenus sur le chlore libre et les autres chloramines inorganiques (MCA et TCA) (Figure 26). A noter que l'absorbance du produit formé après cette réaction reste stable pendant au moins 30 minutes. Il a également été vérifié que l'augmentation de l'acidité du milieu n'induit pas de réaction entre les chloramines organiques (comme la glycine par exemple) et l'ABTS (réaction interférente qui se produit lorsqu'on ajoute de l'iodure de potassium ; voir également section Interférences II.3.2.3.1.

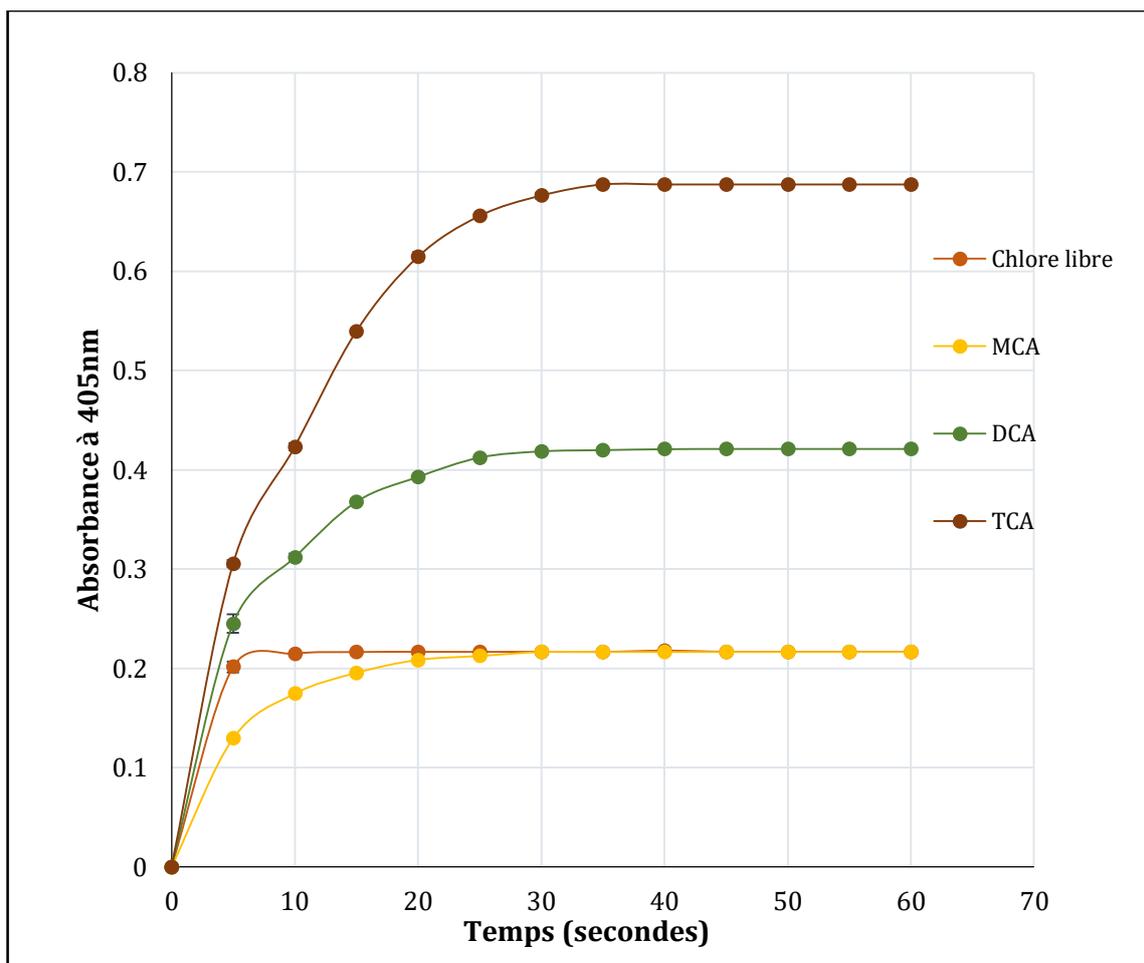


Figure 26. Cinétique de réaction entre le chlore libre, les chloramines inorganiques et l'ABTS en présence de HCl 0,8 M. Conditions opératoires : 1 mL ABTS 250 μ M + 1 mL HCl 0,8 M + 1 mL échantillon à 10^{-5} mol.L $^{-1}$.

Cette optimisation nous a donc permis de trouver les conditions expérimentales permettant de faire réagir l'ensemble des chloramines inorganiques de façon suffisamment rapide pour être utilisé comme réaction post-colonne. Il est par contre important de rappeler à ce stade le principal défaut de la séparation des chloramines par chromatographie liquide, à savoir le fait que le chlore libre et la MCA ne sont pas retenus sur la colonne et ont donc les mêmes temps de rétention. Ces deux composés ne peuvent donc pas être détectés séparément dans les conditions actuelles, que ce soit par la méthode ABTS décrite ici ou par les autres méthodes proposées dans la littérature (direction UV directe ou réaction post-colonne avec les ions iodures).

Une première solution envisagée pour résoudre ce problème d'interférences a été l'ajout de réactifs pour masquer le chlore libre avant réaction avec le réactif ABTS. Plusieurs

agents réducteurs issus de la littérature ont été testés [176,177] : les nitrites, l'acide malonique en présence de glycine, l'acide ascorbique, le sulfite de sodium, le résorcinol, le nitrophénol et l'éthylacétoacétate. Les tests effectués ont montré que tous ces agents potentiellement masquants pour le chlore libre peuvent également masquer la MCA au moins partiellement, et ne sont donc pas utilisables dans ce but.

La deuxième solution envisagée a été de réoptimiser la réaction entre le chlore libre, la MCA et l'ABTS afin de trouver des conditions où un seul des deux composés réagira.

Au vu des résultats obtenus à pH 2,5 et 3,5 (Tableau 18), de nouveaux essais ont été menés dans cette gamme (à pH 2,8 ; 3 ; 3,2 et 3,4). Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 19. Ils montrent que la réaction à pH 2,8 permet de détecter 100% du chlore libre et environ 80% de la MCA ; ils montrent également qu'à pH 3, le chlore libre réagit avec l'ABTS tandis que la MCA ne réagit pas, et qu'à pH 3,2 et 3,4 ni le chlore libre, ni la MCA ne réagissent.

Tampon phosphate (10mM)	Chlore libre	MCA
pH 2,8	100%	80%
pH 3	100%	-
pH 3,2	15%	-
pH 3,4	-	-

Tableau 20. Optimisation de la réaction colorimétrique entre le chlore libre, la MCA à 10^{-5} M et l'ABTS 250 μ M en présence de tampon phosphate (10 mM) à pH compris entre 2,8 et 3,4.

La cinétique de la réaction entre l'ABTS et le chlore libre ou la MCA a donc été étudiée avec le tampon à pH 3 (Figure 27). La réaction avec le chlore libre est bien totale à pH 3 au bout de 30 secondes de réaction, sans interférences de la MCA.

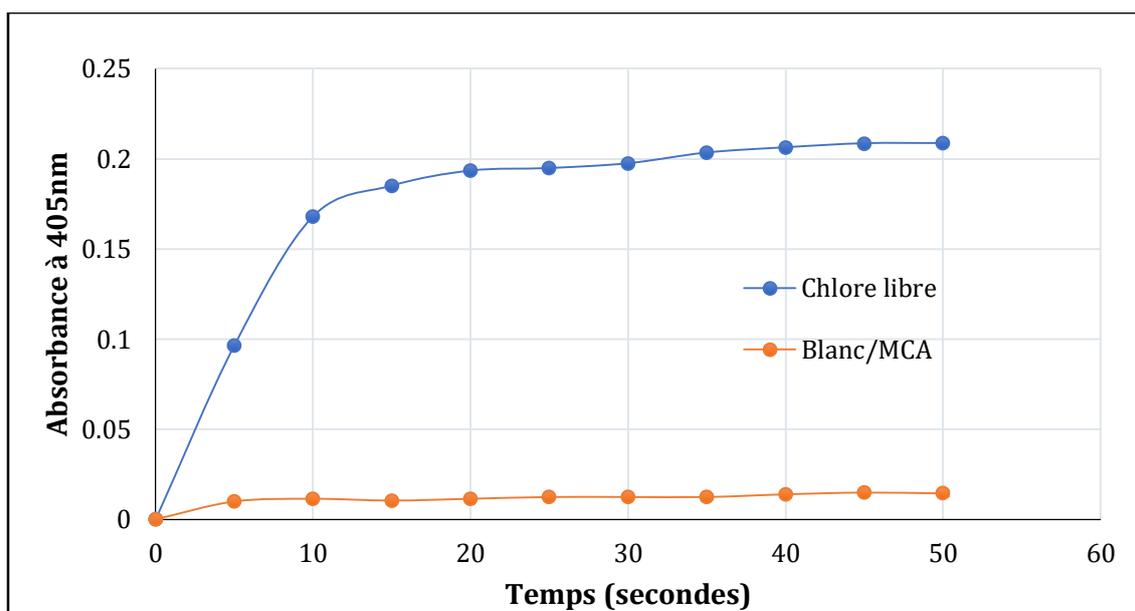


Figure 27. Cinétique de réaction entre le chlore libre, la MCA à 10^{-5} M et l'ABTS ($250 \mu\text{M}$) en présence de tampon phosphate (10 mM) à pH 3. Conditions expérimentales : $1 \text{ mL ABTS } 250 \mu\text{M}$ + 1 mL Tampon + $1 \text{ mL composé à } 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, avec le blanc : eau ultrapure).

De façon synthétique, cette optimisation a permis de mettre au point les conditions réactionnelles pour la détection post-colonne des chloramines avec l'ABTS pour une implémentation dans le futur analyseur en flux. Deux analyses seront effectuées pour chaque échantillon : la première avec le réactif ABTS/HCl $0,8 \text{ M}$ pour analyser l'ensemble des composés (chlore libre + MCA, DCA ou TCA), et une deuxième avec le réactif ABTS/Tampon phosphate (10 mM) pH 3 pour différencier le chlore libre de la monochloramine (quantification uniquement du chlore libre).

II.3.2.2.2. Dérivation avec OPA/Thiol

Une autre méthode de détection a été envisagée suite aux difficultés rencontrées pour quantifier séparément le chlore libre de la monochloramine avec l'ABTS. Les chloramines étant composées à la fois de groupements chlores réactifs (pouvant réagir avec l'ABTS) et d'une partie azotée, ces deux entités de la molécule peuvent être exploitées d'un point de vue analytique.

Les chloramines inorganiques étant des oxydants, elles peuvent facilement être réduites en ammoniac (ou ammonium en fonction du pH), et de nombreuses méthodes de détection de l'ammoniac sont alors potentiellement applicables. Des travaux sur

l'utilisation et l'application de la méthode OPA/thiol pour la détermination de l'ammoniac avaient déjà été effectués au LCE [179], et nous avons donc décidé de tester l'application de cette méthode pour la détection des chloramines.

La réaction entre l'OPA et l'ammoniac en présence de thiol (comme l'acide thioglycolique) en milieu aqueux basique forme un produit fluorescent (de type isoindole) selon l'équation décrit dans la Figure 28, détectable à une longueur d'onde d'excitation de 415 nm et à une longueur d'onde d'émission de 485 nm :

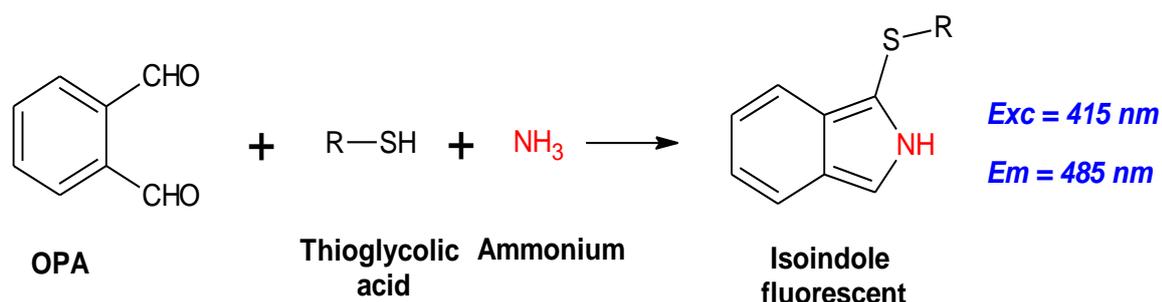


Figure 28. Réaction entre l'ammonium et l'OPA en présence de l'acide thioglycolique.

Cette méthode présente plusieurs avantages pour notre application :

- Le thiol utilisé pour la réaction est un composé réducteur, il servira donc à la fois à réduire les chloramines en ammonium et à faire la réaction de dérivation. Cela évite ainsi l'ajout d'un réducteur supplémentaire.
- Cette méthode est très sensible pour l'ammonium.
- Cette méthode détecte spécifiquement l'ammonium inorganique par rapport aux amines organiques (type acides aminés...) grâce au choix des longueurs d'onde. Ainsi, les chloramines organiques (réduites en amines organiques par le thiol) n'interféreront pas dans la méthode, ni aucun autre composé ou oxydant autre que l'ammoniac présent naturellement dans l'échantillon.

La méthode de détection des ions ammonium avec l'OPA utilise le plus souvent des composés soufrés comme la N-Acétylcystéine [178, 179] ou les ions sulfites [181]. Ces méthodes présentent toutefois l'inconvénient de nécessiter un temps de réaction assez long (entre 5 et 10 minutes), ce qui est difficilement applicable pour une réaction post-colonne (perte de résolution par élargissement des pics chromatographiques, due à la

diffusion dans les tuyaux). Une étude bibliographique nous a montré qu'un thiol spécifique (l'acide thioglycolique) permettait d'obtenir une réponse en fluorescence maximum pour un temps de réaction de 20 secondes [175]. Dans cette étude, un tampon borate très concentré (0,4 M) à pH 10,6 était utilisé pour effectuer la réaction. Les sels de borate étant classés toxiques pour la reproduction (Catégorie 1B) par la législation européenne [182], nous avons décidé de réétudier les conditions opératoires de cette réaction OPA/acide thioglycolique pour optimiser la détection et voir si le tampon borate pouvait être remplacé par un tampon moins toxique. Les optimisations pour les expériences dans cette partie ont été effectuées en utilisant les techniques d'analyse en microplaque (voir partie Matériel et méthodes). Cette technique d'analyse permet de tester de nombreuses conditions réactionnelles simultanément (jusqu'à 96 analyses par microplaque), tout en réduisant les volumes de solutions utilisées. Elle est donc idéale pour les expériences d'optimisation pour développer de nouvelles méthodologies d'analyse.

Tout d'abord, nous avons commencé à tester la procédure par la détermination de l'ammoniac ($5 \cdot 10^{-5}$ M) en présence d'OPA (10 mM) et d'acide thioglycolique (10 mM) préparées dans un tampon phosphate à pH 11,6.

Dans un premier temps, la solution d'OPA a été préparée en dissolvant une quantité déterminée d'OPA dans de l'éthanol pour préparer une solution mère. Cette solution a été ensuite diluée dans un tampon phosphate, et de l'acide thioglycolique a été ajouté. Le pH a ensuite été ajusté à la valeur désirée.

Dans un second temps, on a montré que le broyage de l'OPA permettait de le dissoudre dans le tampon phosphate directement sans avoir à ajouter de l'éthanol. De plus, on a pu montrer que ce mode opératoire n'influçait pas sur la réaction entre les chloramines et l'OPA, et c'est donc cette méthode qui a été finalement retenue pour la préparation de la solution OPA/Thiol.

Pour toutes les expériences en microplaque, 50 μ L de réactif OPA/acide thioglycolique sont ajoutés à 100 μ L d'échantillon, et la fluorescence est mesurée toutes les 5 secondes à une longueur d'onde d'excitation de 415 nm et d'émission de 485 nm.

En se basant sur le résultat initial obtenu, on a testé en premier lieu si la solution de la monochloramine en présence d'un agent réducteur pouvait se transformer en ammoniac et par la suite être quantifiée par la réaction de dérivation. La Figure 29 montre que la réponse est la même pour les deux composés à la même concentration (5.10^{-5} M). Des résultats similaires ont été obtenus avec la DCA et la TCA. En notant qu'une solution du chlore libre à 5.10^{-5} mol.L⁻¹ a été testée avec cette solution afin de vérifier l'absence de réaction avec l'OPA.

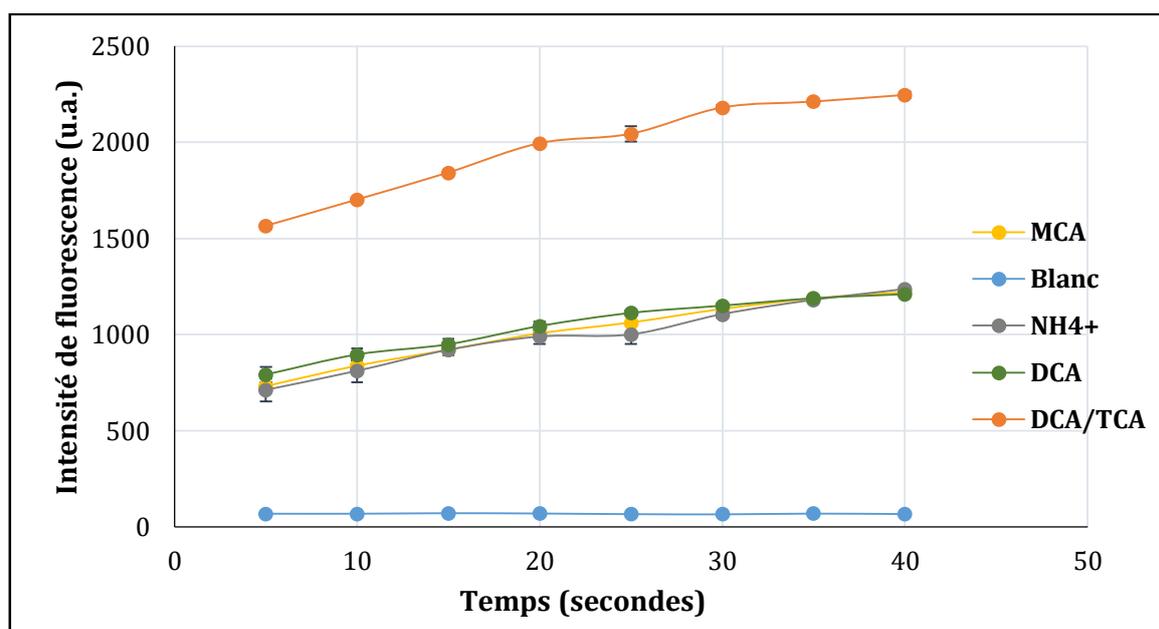


Figure 29. Intensités de fluorescence obtenues lors de la réaction entre l'eau (Blanc), NH_4^+ (5.10^{-5} M), MCA (5.10^{-5} M), DCA (5.10^{-5} M) et mélange DCA (10^{-5} M) /TCA (9.10^{-5} M) avec l'OPA/Thiol 10 mM en présence du tampon phosphate 0,01 M pH 11,6. Conditions opératoires : 100 μL OPA/Thiol + 50 μL échantillon, $\lambda(\text{Ex})$ 415nm et $\lambda(\text{Em})$ 485nm.

Cette étape de vérification de la réaction de dérivation chimique des chloramines inorganiques a été suivie par plusieurs étapes d'optimisation de la réaction afin d'améliorer la sensibilité de la détection. Trois paramètres ont été étudiés : la nature des tampons utilisés (phosphate, diphosphate et borate), le pH du tampon (entre 7 et 12) et le rapport molaire entre l'OPA et le thiol utilisé pour la réaction de dérivation.

Pour commencer, on a effectué des tests en utilisant le même tampon (phosphate 0,01 M) à différents pH (entre 7 et 12) et en fixant la concentration de l'OPA/Thiol à 30 mM (1 :1). Les meilleures réponses ayant été obtenues autour de pH 11, des tests plus fins ont été effectués entre pH 11 et pH 12. Les meilleurs résultats ont été obtenus à pH 11 avec une

valeur maximale de fluorescence pour la MCA et minimale pour le blanc (Figure 30). A noter que les mêmes expériences ont été effectuées également avec l'ammoniac à 5.10^{-5} M pour vérifier que la réponse était similaire à celle obtenue avec la MCA.

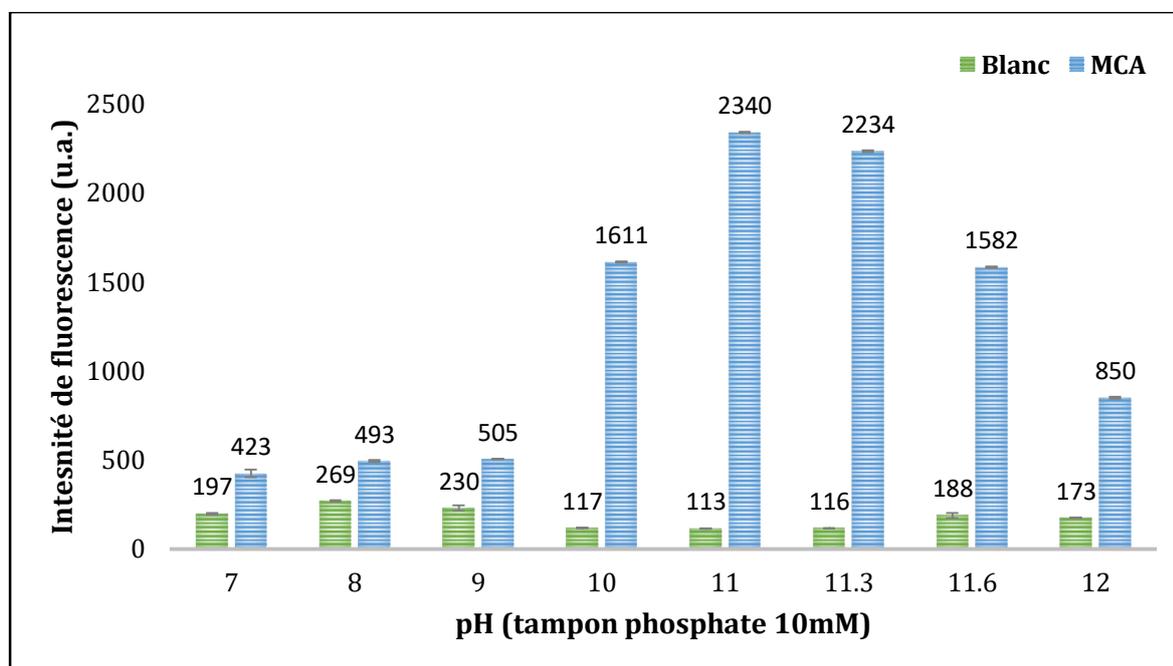


Figure 30. Intensités de fluorescence obtenues lors de l'optimisation de la réaction entre OPA/Thiol 30 mM (1 :1) et MCA (5.10^{-5} M) en utilisant le tampon phosphate 0,01 M pH 7 à 12. Blanc : eau ultrapure. Conditions expérimentales : 100 μ L OPA/Thiol + 50 μ L échantillon, λ (Ex) 415nm et λ (Em) 485nm.

Cette expérience montre qu'un milieu basique est absolument nécessaire pour obtenir l'intensité de fluorescence la plus élevée. D'autres tampons ont été testés à un pH compris entre 10 et 11,5 : tampon borate et tampon diphosphate, deux tampons ayant des pKa autour de 9,5.

La Figure 31 montre que le tampon diphosphate à pH 11 donne la réponse maximale, et permet d'améliorer la sensibilité et la limite de détection des chloramines inorganiques avec cette dérivation chimique.

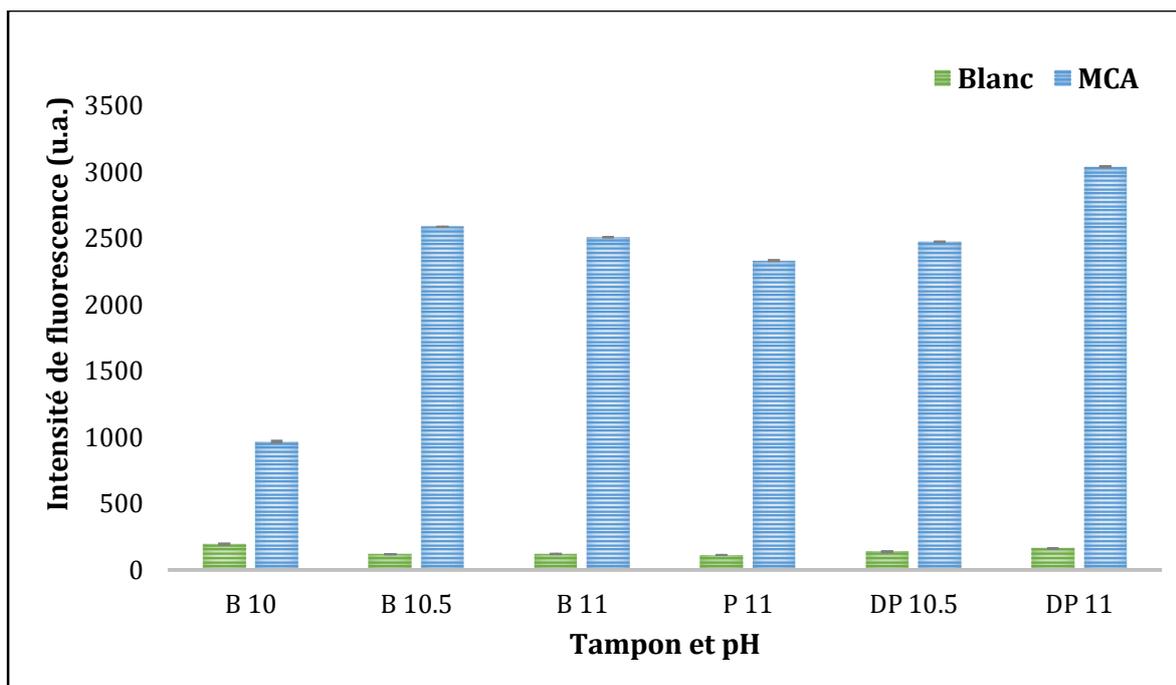


Figure 31. Intensités de fluorescence obtenues lors de l'optimisation de la réaction entre OPA/Thiol 30mM (1 :1) et MCA ($5 \cdot 10^{-5}$ M) en utilisant différents tampons à différents pH. B : Tampon borate 0,01 M, P : Tampon phosphate 0,01 M et DP : Tampon diphosphate 0,01 M. Conditions expérimentales : 100 μ L OPA/Thiol + 50 μ L échantillon.

Le tampon diphosphate à pH 11 a donc été retenu comme tampon pour préparer la solution d'OPA/Thiol. D'autres tampons ont été testés (carbonate...), mais avec des réponses moins intéressantes que les trois tampons mentionnés.

Le dernier facteur pouvant avoir une influence sur l'intensité de la réponse de fluorescence est le rapport molaire entre les concentrations des réactifs OPA et acide thioglycolique [179]. Les essais ont été effectués pour des concentrations d'OPA et de thiol dans le réactif entre 10 et 80 mM dans la solution à pH 11 (en utilisant le tampon diphosphate) (Figure 32).

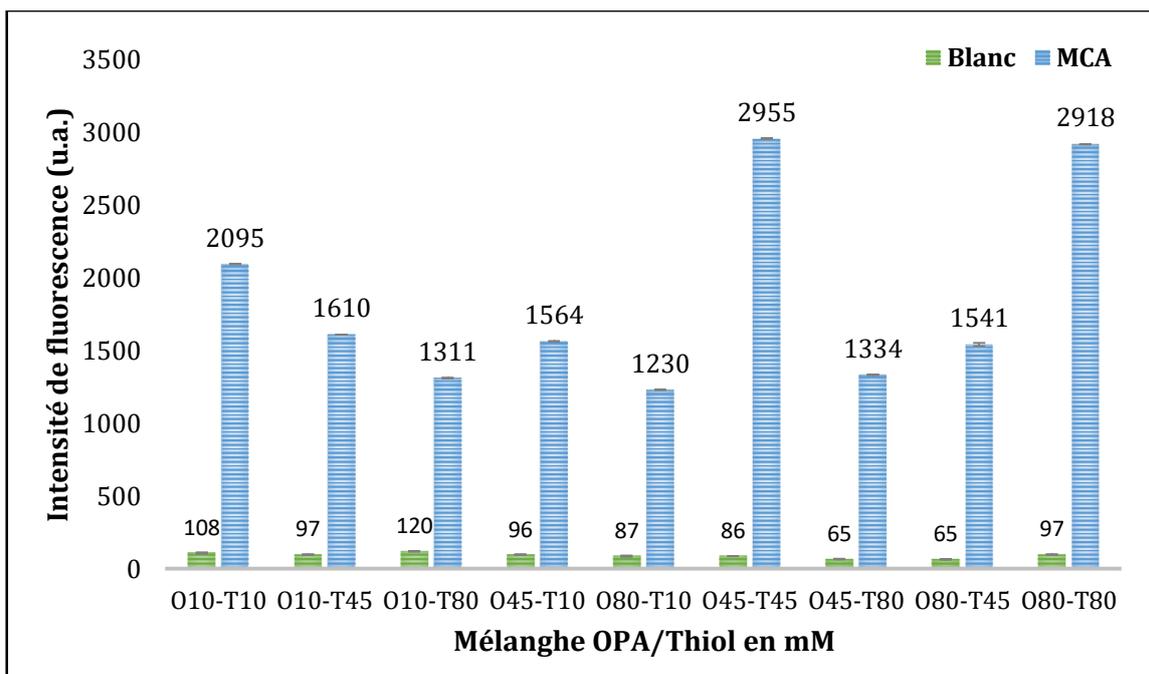


Figure 32. Intensités de fluorescence obtenues lors de l'optimisation de la réaction avec MCA (5.10^{-5} M) en fonction de la concentration de l'OPA et de l'acide thioglycolique (unité de la concentration en mM). Expérience : 100 μ L OPA/Thiol + 50 μ L échantillon.

Au vu des résultats présentés dans la Figure 32, on constate que les concentrations similaires des deux réactifs ont donné les meilleurs résultats, ce qui s'explique probablement par la stœchiométrie de la réaction (une molécule d'OPA réagit avec une molécule de thiol). Ces conditions finales ont été testés avec des solutions de DCA et de TCA, en trouvant la même conclusion avec les trois espèces de chloramines inorganiques.

Pour conclure cette partie, la réaction de dérivation chimique des trois chloramines inorganiques a été étudiée et optimisée pour une intégration future dans le système d'analyse en flux en utilisant un fluorimètre à la place du spectrophotomètre utilisé pour l'ABTS. Les conditions optimales sont les suivantes : réactif OPA/acide thioglycolique à 45 mM dans un tampon diphosphate 0,01 M à pH 11, mesure de la fluorescence après 20 secondes. Nous avons ainsi pu remplacer le tampon borate toxique tout en améliorant la sensibilité de la méthode et en conservant un temps de réaction très court. La solution d'OPA avec l'acide thioglycolique peut être conservée pendant 1 mois au frigo sans baisse significative des résultats obtenus. L'inconvénient de cette méthode de détection réside cependant dans le fait que l'ammoniac est détecté comme les chloramines inorganiques. La méthode pourrait être utilisée directement (sans séparation) pour doser l'ensemble des chloramines inorganiques dans des échantillons où l'ammoniac est normalement

converti en chloramines (eaux fortement chlorées comme les eaux de piscine). La limite de détection en microplaques serait autour de $0,3 \mu\text{M}$ (en concentrations de chloramines inorganiques), soit $20 \mu\text{g/L}$ pour la MCA.

II.3.3. Application au système d'analyse en flux

II.3.3.1. Système d'analyse et performances analytiques sans réaction post-colonne

Un premier système d'analyse basse pression sans réaction post-colonne (Figure 33) a été mis en place afin de pouvoir comparer par la suite les résultats obtenus avec et sans réaction post-colonne. Pour ce système, la détection est réalisée directement après la colonne monolithique avec un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 210 nm. Cette longueur d'onde n'est pas optimale pour chaque chloramine, mais elle représente le meilleur compromis pour l'ensemble des chloramines. Les résultats sont présentés dans le Tableau 21.

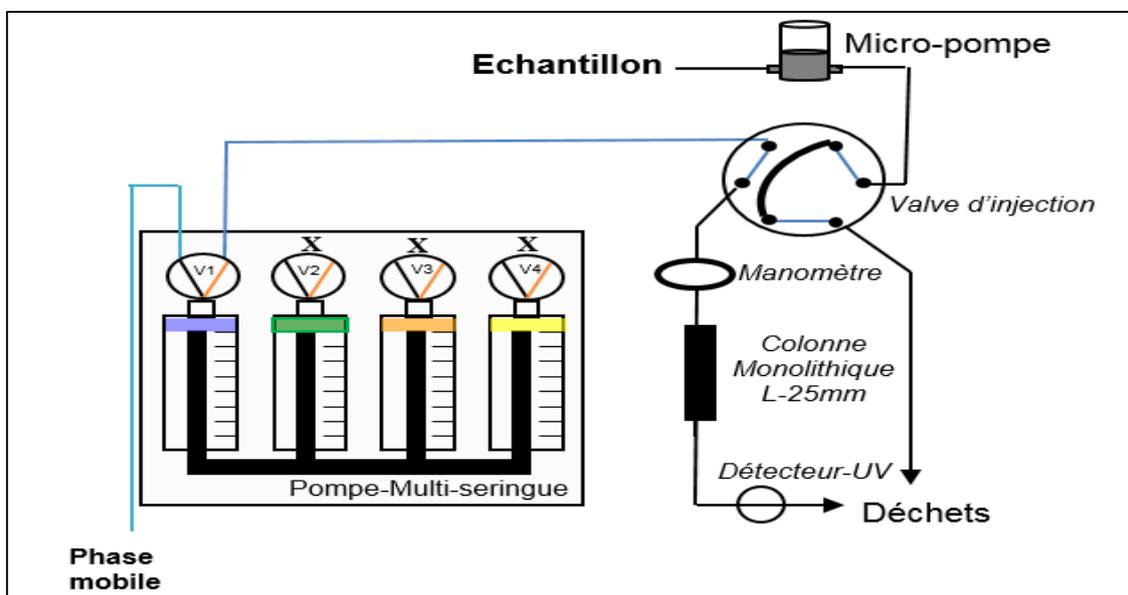


Figure 33. Schéma descriptif du système d'analyse chromatographique à basse pression sans réaction post-colonne.

Les limites de détection obtenues (Tableau 20) sur ce genre de système basse pression sont très élevées ($4,6 \text{ mg Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ pour MCA ; $2,4 \text{ mg Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ pour DCA et $0,95 \text{ mg Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ pour

la TCA), ce qui montre bien le besoin d'ajouter une étape supplémentaire de réaction post-colonne afin d'améliorer la sensibilité.

Colonne monolithique			
	MCA	DCA	TCA
Temps de rétention (en minutes)	1,03	1,60	6,2
Limite de détection (en µg (eq) Cl₂.L⁻¹)	4600	2400	950
Equation de la droite	$Y=1,77.10^4 C+0,08$	$Y= 5,46.10^3 C+0,07$	$Y=1,21.10^4 C + 0,12$
Coefficient de régression	0,988	0,999	0,972

Tableau 21. Caractéristiques analytiques de la séparation des chloramines inorganiques avec le système à basse pression sans réaction post-colonne.

II.3.3.2. Systèmes d'analyse avec réaction post-colonne

Les deux réactions précédemment étudiées (avec ABTS et OPA) ont été testées comme réaction post-colonne avec le système d'analyse et de séparation à basse pression afin d'améliorer la sensibilité de la détection des chloramines inorganiques.

Afin de réaliser cette étape, un mini mélangeur en PEEK (résistant aux solvants organiques) a été ajouté après la colonne, comme présenté dans la Figure 22 dans la partie (II.3.1). Un tuyau de longueur adapté a également été ajouté entre le mélangeur et le détecteur pour permettre un temps de réaction suffisant. La pression a été contrôlée pendant toutes les expériences pour vérifier qu'elle ne dépasse jamais 5 bars. Les paramètres optimisés pour chacun des réactifs utilisés pour la réaction post-colonne sont présentés dans les parties suivantes.

II.3.3.2.1. Système avec réaction post-colonne avec l'ABTS et détection spectrophotométrique

Dans le but d'appliquer la réaction mise au point avec l'ABTS, il était nécessaire d'optimiser certains paramètres sur le système MSC décrit précédemment, notamment le rapport entre les débits de la phase mobile et de la solution ABTS, ainsi que le temps de réaction entre mélangeur et détecteur (dépendant du débit et du volume de tuyau ajouté entre le mélangeur et le détecteur). Un protocole a été optimisé et appliqué en utilisant le logiciel AutoAnalysis afin d'automatiser toutes les étapes d'analyse pour le système MSC.

Tout d'abord, l'optimisation a concerné le rapport entre les débits de la phase mobile (Acétonitrile 20%- Eau 80%) et celui de la solution d'ABTS (ABTS 250 μM /HCl 0,8 M ou ABTS 250 μM /Tampon phosphate pH 3) pour assurer la réalisation de la réaction entre les chloramines inorganiques et ce réactif. Les débits devaient rester raisonnables pour ne pas générer de pression trop importante, mais suffisants pour réaliser l'analyse des échantillons dans un intervalle de temps acceptable. Les seringues de phase mobile et d'ABTS ayant été placées sur le même module multi-seringues (afin de simplifier le système global et de ne pas avoir plusieurs modules de seringues à piloter), la seule possibilité pour modifier les rapports des débits de ces deux solutions était d'utiliser des volumes de seringues différents ; les volumes disponibles : 1 mL, 2,5 mL, 5 mL, 10 mL et 25 mL). Dans les tests en cuvette spectrophotométrique, les résultats avaient montré que le volume d'échantillon (donc celui sortant de la colonne, correspondant à la phase mobile contenant les analytes) devait être supérieur à celui du réactif ABTS. Ainsi, le volume de la seringue de phase mobile a été fixé à 5 mL et des tests ont été effectués avec différents volumes de seringue pour l'ABTS (1 mL pour l'ABTS correspond à un rapport 5). Un débit de 0,3 mL.min⁻¹ a été choisi pour la phase mobile car ce débit était le plus acceptable au niveau du temps d'analyse des chloramines inorganiques et de la pression (P 2,5 bars). Un tuyau de 50 cm de longueur et 0,5 mm de diamètre interne (volume total 100 μL) a été placé entre le mélangeur et la cellule de détection.

Rapport de débits	MCA		DCA		R	TCA	
	Temps de rétention	Aire du pic	Temps de rétention	Aire du pic		Temps de rétention	Aire du pic
1	2,05	10,1	3,5	7,4	1,5	14,5	18,5
2	2,8	11,5	4,03	9,6	2,01	13,9	21,2
5	2,71	10,1	3,7	4,1	0,7	13,7	17,7

Tableau 22. Influence du rapport des débits entre la phase mobile et le réactif. R : résolution entre MCA-DCA, débit en mL.min⁻¹, temps de rétention en minutes.

Les résultats dans le tableau 21 montrent qu'un rapport de débit de 2 permet d'obtenir les meilleurs résultats en termes d'aires de pics et de résolution entre les deux pics les plus proches (MCA et DCA). Les temps d'analyse globaux sont peu influencés par ce rapport de débit. Une seringue de 2,5 mL pour l'ABTS a ainsi été utilisée pour la suite des expériences sur ce système.

Des expériences ont ensuite été réalisées pour améliorer la sensibilité en optimisant le temps de réaction entre les analytes et l'ABTS. Ce temps de réaction dépend du volume de tuyau entre le mélangeur et la cellule de détection, ainsi que des débits des phases mobiles et de l'ABTS. Trois volumes de tuyaux ont été testés : 100, 200 et 300 μ L (correspondant à des tuyaux de longueur 50, 100 et 150 cm avec un diamètre interne de 0,5 mm). Deux débits de phase mobile ont également été testés (0,3 et 0,5 mL.min⁻¹, en sachant que le débit de l'ABTS correspond à la moitié de celui de la phase mobile, la seringue d'ABTS ayant un volume deux fois plus petit). Le Tableau 22 suivant présente les temps de rétention obtenus pour la MCA et la DCA, les aires de pics ainsi que la résolution entre le pic de MCA et de DCA en fonction des différents débits et volume du tuyau utilisé avant la cellule de la détection.

Débit	Volume du tuyau	MCA		DCA		Résolution
		Temps de rétention	Aire du pic	Temps de rétention	Aire du pic	
0,3	100	2,88	11,5	4,03	9,6	2,01
0,5	100	1,8	4,05	2,6	1,57	2,15
0,3	200	3,11	12,4	4,35	10,9	1,57
0,5	200	2,01	7,6	2,66	3,7	1,78
0,3	300	3,36	10,9	4,61	8	1,69
0,5	300	2,08	7,3	2,82	6,7	1,51

Tableau 23. Influence du débit et du volume du tuyau entre le mixeur et le détecteur. Débit en mL.min⁻¹, volume du tuyau en µL et temps de rétention en minutes.

Les résultats dans ce tableau 22 montrent qu'un volume de tuyau de 100 µL semble suffisant pour obtenir des aires de pic optimales. Un débit faible de 0,3 mL.min⁻¹ permet d'atteindre des aires de pic toujours supérieures à celles obtenues à un débit plus rapide de 0,5 mL.min⁻¹. Comme attendu, les résolutions diminuent avec la longueur du tuyau et donc avec le temps de réaction. Ces conditions (volume de 100 µL, débit de 0,3 mL.min⁻¹) ont donc été choisies comme meilleur compromis entre les aires de pic et la résolution entre les pics de MCA et de DCA. Le temps de réaction théorique (14 secondes avec 100 µL en prenant en compte un débit combiné entre phase mobile et ABTS de 0,45 mL.min⁻¹) est pourtant plus court que celui trouvé lors des expériences en cuvette (plutôt 30 secondes), mais cela semble suffisant et permet de ne pas diminuer la résolution.

Toutes ces conditions optimisées ont également été testées pour analyser une solution d'hypochlorite de sodium avec le réactif ABTS/Tampon phosphate pour vérifier que les mêmes optimisations étaient valables pour le chlore libre.

Une fois que ces étapes d'optimisations ont été réalisées, nous avons pu définir un protocole d'analyse global pour l'analyse des chloramines inorganiques. Ce protocole

comprend deux cycles (Tableau 23) : un premier cycle avec le réactif ABTS/ Tampon phosphate pour analyser le chlore libre seul dans l'échantillon, puis un deuxième cycle avec le réactif ABTS/HCl pour analyser les chloramines inorganiques et le chlore libre ensemble.

Tout d'abord, une étape d'aspiration de l'échantillon dans la valve d'injection (étape 1) est effectuée suivie par la préparation du détecteur pour effectuer la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde de 405 nm (étapes 2 et 3). La séparation par la partie chromatographie est déclenchée après l'injection (étape 4) en distribuant la phase mobile dans le système (étape 6) et en pompant le réactif ABTS/Tampon. Un deuxième cycle est ensuite réalisé (à partir de l'étape 8), en remplissant de nouveau la boucle d'injection par l'échantillon, ainsi que le rechargement des seringues, suivie par les mêmes étapes que le premier cycle mais en pompant le deuxième réactif ABTS/HCl afin d'analyser les chloramines inorganiques.

	V1	V2	V3	Valve d'injection	Mode	Volume (ml)	Débit (mL.min ⁻¹) ^a	MP1 (µL)
1	OFF	OFF	OFF	Aspirer	-	-	-	500
2	Spectre noir continu							
3	Spectre blanc continu							
4	OFF	OFF	OFF	Injecter	-	-	-	-
5	Déclencher la mesure							
6	ON	OFF	ON	Injecter	Dispenser	5	0,30	-
7	Arrêter la mesure							
8	OFF	OFF	OFF	Injecter	Remplir	5	5	-
9	OFF	OFF	OFF	Aspirer	-	-	-	500
10	OFF	OFF	OFF	Injecter	-	-	-	-
11	Déclencher la mesure							
12	ON	ON	OFF	Injecter	Dispenser	5	0,30	-
13	Arrêter la mesure							
14	OFF	OFF	OFF	Injecter	Remplir	5	5	-

Tableau 24. Protocole analytique avec le logiciel Autoanalysis pour le système MSC. Valve 1- Phase mobile, Valve 2- Réactif ABTS/Tampon, Valve-3 Réactif ABTS/HCl. (a) Débit de S1 (Phase mobile).

Deux chromatogrammes (Figure 34) présentent les résultats d'analyse obtenus avec des solutions standards de chloramines inorganiques en utilisant les conditions optimisées (phase mobile : MeCN 20%- Eau 80%, débit 0,3 mL.min⁻¹). Le premier chromatogramme à gauche présente les deux pics obtenus pour une solution de MCA et de DCA, le deuxième chromatogramme à droite présente le pic de la trichloramine.

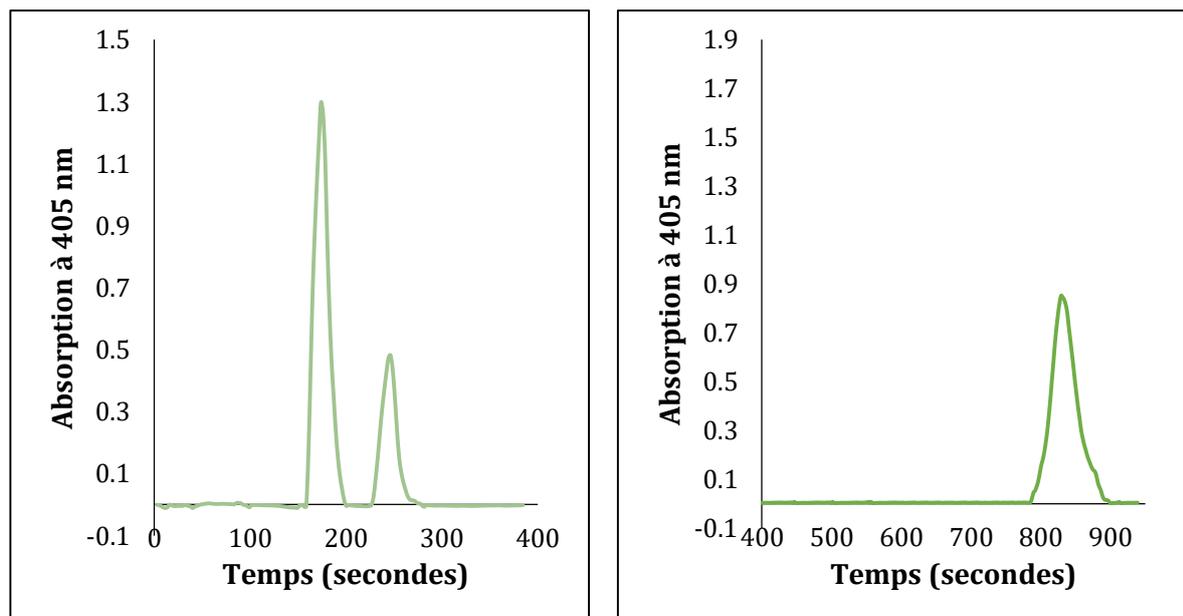


Figure 34. Chromatogrammes obtenus lors de l'analyse des solutions de chloramines inorganiques avec le système MSC. Phase mobile (MeCN 20%-Eau 80%), solution monodichloramine à gauche et partie de la solution TCA à droite représentant le pic de TCA seulement.

L'application de cette méthode nous a ainsi permis de calculer les caractéristiques analytiques de notre système en étudiant notamment des gammes d'étalonnage pour les chloramines inorganiques testées. Les données sont résumées dans le Tableau 24. Les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) ont été estimées en effectuant des mesures à blanc ($n = 6$) et en calculant l'écart-type des aires de pics correspondant pour ces essais à blanc. Les limites de détection des chloramines inorganiques avec le réactif ABTS/HCl sont autour de $10 \mu\text{g Cl}_2\cdot\text{L}^{-1}$ pour toutes les chloramines inorganiques. Ces limites de détection sur notre système MSC avec réaction post-colonne sont très inférieures à celles obtenues sans réaction post-colonne (détection UV directe), ce qui prouve l'efficacité de la réaction post-colonne avec le réactif ABTS. Ces limites atteintes sont comparables à celles obtenues par la méthode de dosage titrimétrique et 2 à 10 fois

inférieures aux limites de détection généralement constatées par utilisation du MIMS [91].

Les pentes des équations de régression linéaire du chlore libre ou des chloramines inorganiques sont toutes similaires après réaction avec ABTS (quand les concentrations sont exprimées en équivalent $\text{Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$), ce qui prouve que les concentrations en chloramines ne sont pas affectées par la séparation chromatographique en utilisant nos conditions expérimentales (colonne monolithique pour la séparation rapide, phase mobile acétonitrile avec de l'eau), au contraire de ce qui avait été décrit précédemment par utilisation de l'HPLC/UV traditionnelle et de tampons dans la phase aqueuse [91]. En ce qui concerne le débit d'analyse des échantillons, l'utilisation d'un débit de phase mobile de $0,3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ (afin d'améliorer la sensibilité) conduit à un temps total d'analyse d'environ 30 minutes (comprenant les deux cycles avec les solutions d'ABTS), permettant ainsi l'analyse de deux échantillons / heure.

Paramètres analytiques	MCA (ou HOCl) ^a	DCA ^a	TCA ^a	HOCl ^b
Limite de détection ($\mu\text{g Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	9,3	9,9	10	29,2
Limite de quantification ($\mu\text{g Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	31,2	33	33,5	97,4
Gamme de linéarité ($\mu\text{g Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	31-3550	33-7100	34-10650	111-3550
Equation de la droite	$A = 1,16 \cdot 10^{-3} C + 0,23$	$A = 11,3 \cdot 10^{-3} C + 0,25$	$A = 12,4 \cdot 10^{-3} C + 0,06$	$A = 9,26 \cdot 10^{-3} C + 0,06$
Coefficient de régression R^2	0,997	0,998	0,999	0,986
RSD(%)	4,9	3,8	4,4	3,7
Temps de rétention (min)	3,0	4,05	13,9	3,0
RSD du temps de rétention (%)	1,2	1,8	0,4	1,6

Tableau 25. Caractéristiques analytiques du système MSC avec le réactif ABTS. (a) solution ABTS/HCl, (b) solution ABTS/Tampon, A= aire du pic, C= concentration de l'analyte ($\mu\text{g Cl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$).

II.3.3.2.2. Système avec réaction post-colonne avec le réactif OPA/thiol et détection spectrofluorimétrique

La réaction post-colonne de dérivation chimique avec le réactif OPA/Thiol a été testée avec le système de séparation chromatographique basse pression. Dans cette étude, le détecteur spectrophotométrique précédemment utilisé a été remplacé par un détecteur spectrofluorimétrique adapté aux systèmes chromatographiques (détecteur Dionex RF2000) et piloté par un logiciel spécifique.

Des étapes préalables pour l'optimisation de la réponse avec ce détecteur ont tout d'abord été effectuées en réglant plusieurs paramètres sur le détecteur (gain et sensibilité) avec des solutions de MCA dérivées par le réactif OPA/Thiol. Par la suite, nous avons commencé par étudier l'optimisation des paramètres concernant la réaction post-colonne avec le système à basse pression. Le détecteur fluorescent possédant un logiciel indépendant à Autoanalysis, le programme d'analyse sur Autoanalysis a été simplifié et comprend seulement 4 étapes afin de remplir les seringues, la boucle d'injection et pousser la phase mobile dans le système (Tableau 25). L'acquisition au niveau du détecteur est alors lancée au début de l'étape 3.

	V1	V2	Valve d'injection	Mode	Volume (ml)	Débit (mL.min ⁻¹)	MP1 (µL)
1	OFF	OFF	Aspirer	-	-	-	500
2	OFF	OFF	Injecter	-	-	-	-
3	ON	ON	Injecter	Dispenser	5	0,30	-
4	OFF	OFF	Injecter	Remplir	5	5	-

Tableau 26. Protocole analytique avec le logiciel Autoanalysis pour le système MSC. Valve 1 : phase mobile, valve 2 : réactif OPA/Thiol.

De façon identique à l'optimisation avec l'ABTS, des tests ont été effectués pour évaluer l'influence de la longueur (et donc du volume) du tuyau sur la réponse des chloramines (Tableau 26). Le volume de la seringue contenant le réactif OPA/thiol a été fixé à la moitié de celle contenant la phase mobile pour ces premières expériences.

Volume du tuyau (µL)	MCA		DCA		Résolution
	Temps de rétention (min)	Aire du pic	Temps de rétention (min)	Aire du pic	
100	1,97	57 761	3,65	303 186	2,5
200	2,31	84 022	3,88	389 608	2,1
300	2,65	58 851	4,19	420 410	2,4

Tableau 27. Réponses fluorescentes obtenues en fonction du volume du tuyau utilisé entre le mixeur et le détecteur.

Ces résultats ont montré qu'un volume de tuyau de 200 µL semblait le meilleur choix pour cette réaction post-colonne, une augmentation du volume (et donc du temps de réaction) semblant entraîner une baisse de l'aire des pics. Ce volume de tuyau correspond à un temps de réaction de 27 secondes, ce qui est cohérent avec les résultats trouvés lors de l'optimisation de la réaction en microplaques. Par la suite, l'influence du rapport des débits entre la phase mobile et le réactif a été testée pour un mélange de MCA et de DCA (Tableau 27).

Rapport de débits	MCA		DCA		Résolution
	Temps de rétention	Aire du pic	Temps de rétention	Aire du pic	
1	2,08	127 741	4,2	27 677	3
2	2,33	516 062	4,1	164 879	2,2
5	2,51	140 862	3,85	68 917	2,6

Tableau 28. Influence du rapport de débit entre la phase mobile et le réactif OPA/Thiol.

Il apparaît ainsi que le débit de la phase mobile doit être deux fois plus important que celui du réactif, ce qui est cohérent avec les tests effectués en microplaque (100 µL d'échantillon pour 50 µL de réactif).

Les caractéristiques analytiques du système basse pression avec détection par le réactif OPA/Thiol ont ensuite été étudiées. Les données sont résumées dans le Tableau 28. Les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) ont été estimées de la même manière

que la méthode avec l'ABTS. Les limites de détection des chloramines inorganiques avec le réactif OPA/Thiol se situent autour de 10 µg Cl₂.L⁻¹ pour chaque composé, limites comparables à celles obtenues avec l'ABTS.

Paramètres analytiques	MCA (ou NH ₄ ⁺)	DCA	TCA
Limite de détection (µg Cl ₂ .L ⁻¹)	8,2	9,6	5,6
Limite de quantification (µg Cl ₂ .L ⁻¹)	27,5	32,2	18,7
Gamme de linéarité (µg Cl ₂ .L ⁻¹)	38-3550	38-7100	19-10650
Equation de la droite	$I = 8,35 \cdot 10^3 C + 3,15 \cdot 10^4$	$I = 3,49 \cdot 10^3 C + 1,33 \cdot 10^4$	$I = 2,26 \cdot 10^3 C + 4,40 \cdot 10^3$
Coefficient de régression R ²	0,986	0,994	0,974
Temps de rétention (min)	3	4,3	14,5
RSD du temps de rétention (%)	1,3	0,8	0,3

Tableau 29. Caractéristiques analytiques du système MSC avec le réactif OPA/Thiol. I= Intensité de fluorescence (u.a.) , C = concentration en µg Cl₂.L⁻¹.

II.3.3.2.3 Choix entre les deux systèmes de détection suite aux expériences d'optimisation

Lors de l'analyse des chloramines utilisant le système avec détection par le réactif OPA/thiol, nous avons constaté que l'ammoniac ne peut pas être distingué de la MCA (même temps de rétention et même réaction avec le réactif de détection). Ce système présente de très bonnes limites de détection et ne présente à priori pas de risques d'interférences des chloramines organiques ou de tout autre composé, étant donné que la réaction de détection est très spécifique pour l'ammoniac (et donc pour les chloramines inorganiques par réduction). En revanche, l'interférence de l'ammoniac pour la détermination de la MCA limitera l'application de cette méthode à des échantillons où

l'ammoniac libre devrait être absent (comme les eaux de piscine où le chlore est en large excès). Le problème de l'interférence du chlore libre sur la MCA avec le système ABTS ayant été résolu, nous avons décidé de nous focaliser sur ce système-ci pour la suite de l'étude ainsi que pour la validation de la méthode sur échantillons réels. Ce système ABTS est également plus facile à mettre en œuvre au niveau instrumental (la détection spectrophotométrique post-colonne nécessite un matériel plus simple que la détection spectrofluorimétrique), et il serait donc un meilleur candidat pour un système d'analyse en ligne de terrain.

II.3.3.3. Interférences et validation de la méthode

À la suite des expériences d'optimisation, la méthode de détermination des chloramines inorganiques par le système MSC avec réaction ABTS a été étudiée pour évaluer les interférences provenant d'autres sous-produits de désinfection chlorés. Elle a ensuite été appliquée pour analyser des échantillons réels (eaux de piscines).

II.3.3.3.1. Interférences

Dans toutes les méthodes citées dans le chapitre I concernant les méthodes d'analyse des chloramines inorganiques, seules deux méthodes sont capables d'analyser les trois chloramines inorganiques séparément : la méthode standard de détermination du chlore libre et combiné basée sur l'utilisation de la DPD et la méthode MIMS. Un des inconvénients fréquemment mentionnés de la méthode titrimétrique à la DPD/FAS concerne l'interférence des chloramines organiques qui peuvent être détectées sous forme de chloramines inorganiques lors de l'analyse. Par ailleurs, l'analyse de la MCA et de la DCA avec la méthode MIMS ne possède pas la même sensibilité que la trichloramine car cette méthode (comme décrit dans chapitre I) repose sur la volatilité de ce composé.

Nous avons décidé d'évaluer la capacité de notre système MSC à différencier les espèces de chloramines inorganiques et organiques en comparant ses résultats avec ceux obtenus avec la méthode DPD, et en utilisant une solution de glycine chlorée à différentes concentrations. La glycine a été choisie comme amine organique modèle car des études ont montré que la chloration de la glycine entraîne la formation rapide de chloramines

organiques (N-chloro ou N-dichloroglycine) [183]. L'expérience a été effectuée en ajoutant chaque fois 1 mL d'une solution de glycine (100 mg.L^{-1} exprimés en N) à 220 mL de tampon phosphate 0,01 M de pH 7 puis du chlore libre a été ajouté afin d'obtenir des rapports massiques chlore (Cl) : azote (N) entre 2 et 16 (rapport molaire chlore / azote de 0,4 à 3,2). Les solutions ont été agitées pendant 30 minutes, puis analysées par la méthode DPD/FAS et par notre système MSC afin de déterminer la quantité de chloramines inorganiques détectées par chaque méthode (Figure 35). Ces résultats ont également été comparés aux résultats trouvés par analyse par MIMS rapportés dans les mêmes conditions expérimentales par Shang et Blatchley [104].

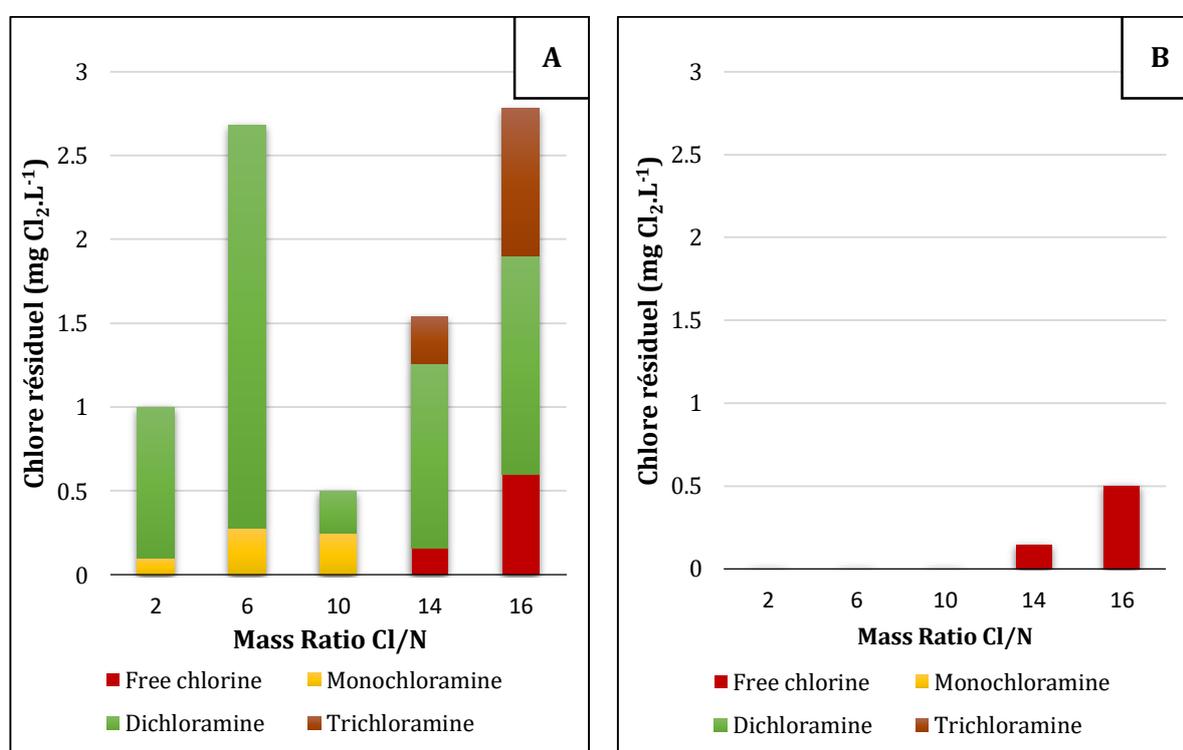


Figure 35. Concentration du chlore résiduel obtenu après 30 minutes de la réaction de chloration de la Glycine en fonction du rapport massique (Cl) : (N). A. Dosage titrimétrique DPD/FAS, B. Système MSC avec ABTS.

Ces résultats ont bien montré le manque de sélectivité de la méthode de dosage titrimétrique DPD/FAS, les chloramines organiques étant quantifiées en quantités élevées sous forme de chloramines inorganiques (monochloramine et dichloramine) même à faible rapport massique. Au contraire du dosage titrimétrique, notre système MSC n'a détecté que le chlore libre à un rapport de masse (Cl) : (N) élevé. Ces résultats

sont cohérents avec ceux décrits par l'application du MIMS qui ont montré qu'aucune chloramine inorganique n'était présente dans ces conditions expérimentales.

Des expériences d'analyse des solutions de glycine chlorées ont également été effectuées en étudiant la réponse directe de ces solutions avec les réactifs ABTS formulés (HCl 0.8 M et tampon phosphate pH 3), sans passer par une séparation chromatographique (expériences avec le spectrophotomètre et les cellules en quartz de 10 mm). Les résultats ont montré que ces chloramines organiques (N-chloroglycine) ne réagissaient pas avec les solutions de l'ABTS. Par conséquent, la coélution potentielle d'une chloramine organique avec une chloramine inorganique ne provoquerait pas d'interférence dans la détermination de la MCA, DCA ou TCA.

Des expériences identiques ont été effectuées avec d'autres acides aminés comme l'asparagine, l'histidine et l'acide aspartique, avec des conclusions similaires à celles obtenues pour la glycine. La chloration d'autres composés potentiellement retrouvés dans les piscines a également été testée, comme l'acide urique, l'urée, l'acide citrique ou la créatinine, et également la chloramine T qui est souvent utilisée comme chloramine organique modèle [163, 130]. Aucune interférence n'a été mise en évidence pour l'ensemble de ces composés, et nous pouvons donc conclure que les chloramines organiques n'interfèrent pas pour la détermination des chloramines inorganiques par notre système MSC. Les sous-produits de désinfection chlorés les plus courants comme les THM et les HAA n'ont également montré aucune réponse avec les deux réactifs (ABTS/HCl) et (ABTS/Tampon phosphate pH), comme il était attendu pour ce genre de composés.

II.3.3.3.2. Réponse des halamines bromées

Bien que notre système MSC a été développé et optimisé pour l'analyse des chloramines organiques, nous avons également voulu tester la réponse des halamines bromées potentiellement formées en présence d'ions bromures, notamment les mono-, di- et tribromamines, ainsi que la bromochloramine. Les résultats ont montré que la monochloramine et la monobromamine sont éluées avec le même temps de rétention et réagissent de la même manière avec l'ABTS/HCl, de même que la dichloramine, la

bromochloramine et la dibromamine qui ne peuvent pas être distinguées. La tribromamine possède en revanche un temps de rétention plus long que la trichloramine (19,6 min pour NBr_3 , contre 13,9 min pour NCl_3), et il est donc possible de différencier ces deux halamines par notre système MSC.

A noter également que les bromamines réagissent de la même manière que les chloramines avec le réactif OPA/thiol, des résultats similaires seraient donc obtenus avec le système MSC utilisant la détection par fluorescence.

II.3.3.3.3. Application de la méthode à des échantillons réels.

Notre système d'analyse multi-seringues a ensuite été appliqué à des échantillons réels d'eaux de piscine prélevés dans 4 piscines intérieures de la Métropole d'Aix-Marseille (Piscine Vallier, Marseille ; Piscine Virginie Dedieu, Fuveau ; Piscine Claude Bollet, Aix-en-Provence ; Piscine Sainte-Victoire, Venelles). Les échantillons (1 à 5) ont été prélevés à 30 cm de profondeur, conservés à 4 °C puis analysés au laboratoire dans un délai inférieur à 2 h. Les échantillons 1 et 2 ont été prélevés dans la même piscine (Vallier) à deux moments différents (échantillon 1 à un moment de faible affluence, échantillon 2 à forte affluence). Les échantillons 3 à 5 ont également été prélevés à des horaires de forte affluence afin d'avoir des conditions de fréquentation permettant de maximiser la formation de chloramines. Au début, nous voulions comparer les résultats des échantillons réels obtenus par notre système avec la méthode par MIMS, qui n'était pas disponible dans notre laboratoire. Les échantillons ont été envoyés à un laboratoire français équipé d'un MIMS, mais la quantification de la MCA et de la DCA n'a malheureusement pas été possible dans ce laboratoire à cause d'interférences d'autres composés et entre les chloramines inorganiques.

Par la suite, nous avons essayé la méthode des ajouts dosés des chloramines inorganiques dans les échantillons réels d'eaux de piscine. Dans ces expériences, des solutions concentrées de chloramine organique (MCA, DCA ou TCA) ont été ajoutées à des échantillons de piscine, et les échantillons dopés ont ensuite été analysés par le système MSC (Tableau 29).

Les résultats présentent des différences très importantes entre les concentrations ajoutées des chloramines inorganiques et les concentrations théoriques après dopage. Ceci montre que cette méthode de validation n'est pas applicable pour les chloramines car l'ajout des chloramines inorganiques dans des échantillons de piscine (contenant déjà du chlore libre) entraîne des modifications dans les équilibres entre le chlore et les chloramines inorganiques.

	Chlore libre	MCA	DCA	TCA
Echantillon non dopé	1,52	<LQ	<LQ	<LQ
Après dopage avec la MCA (1,7 mg Cl₂.L⁻¹)	<LQ	3,20	<LQ	<LQ
Après dopage avec la DCA (2,85 mg Cl₂.L⁻¹)	<LQ	1,68	2,11	<LQ
Après dopage avec la TCA (6 mg Cl₂.L⁻¹)	1,40	<LQ	3,50	2,30

Tableau 30. Analyse d'échantillons de piscine dopés avec des chloramines, unités en mg Cl₂.L⁻¹. Nous avons donc choisi d'évaluer les performances de notre méthode d'analyse en comparant les résultats obtenus sur les échantillons de piscine par notre système MSC et par la méthode titrimétrique DPD/FAS. Les résultats dans le Tableau 30 présentent l'analyse des 5 échantillons différents d'eaux de piscines.

Les mesures de chlore libre sont en bon accord entre les deux méthodes, les faibles différences entre les résultats pouvant être expliquées par l'automatisation du procédé en ligne contre l'analyse manuelle par le dosage titrimétrique DPD/FAS. La TCA n'a pas été quantifiée quelle que soit la méthode d'analyse. Cependant, des différences significatives sont apparues pour les chloramines inorganiques (MCA et DCA). La MCA a été détectée par la méthode DPD/FAS dans deux échantillons à de faibles concentrations (2 et 3), mais non détectée par notre méthode MSC. Les mesures de DCA ont montré les plus fortes différences entre les deux méthodes d'analyse, la quantification avec la méthode DPD/FAS donnant toujours des résultats beaucoup plus importants qu'avec le système MSC. Cette différence importante peut s'expliquer par l'incapacité de la méthode de dosage titrimétrique DPD / FAS à différencier les chloramines inorganiques des

chloramines organiques [104], ce qui a été redémontré dans cette étude avec application aux eaux de piscine. Les échantillons ayant été collectés aux heures de forte affluence, des quantités importantes de chloramines organiques ou d'autres substances interférentes pour la méthode DPD / FAS pouvaient être attendues en raison de la réaction du chlore avec l'azote organique et les composés réactifs apportés par les nageurs dans les piscines.

Notre méthode semble donc plus fiable que les méthodes de référence basées sur la DPD pour l'analyse des chloramines inorganiques. Elle peut être également appliquée à d'autres types d'eau comme les eaux destinées à la consommation humaine, en particulier quand la MCA est utilisée comme désinfectant secondaire comme aux Etats-Unis, au Canada ou au Japon. Des essais ont été effectués sur l'eau du robinet du laboratoire, aucune chloramine inorganique n'a pu être quantifiée.

	HOCl		MCA		DCA		TCA	
	DPD/FAS	MSC	DPD/FAS	MSC	DPD/FAS	MSC	DPD/FAS	MSC
1	1,52±0,03	1,60±0,09	<LQ	<LQ	0,58±0,0	<LQ	<LQ	<LQ
2	1,50±0,01	1,52±0,04	0,20±0,00	<LQ	1,02±0,02	0,37±0,05	<LQ	<LQ
3	1,7±0,04	1,60±0,11	0,1±0,01	<LQ	0,7±0,03	0,68±0,04	<LQ	<LQ
4	1,2±0,00	1,15±0,06	<LQ	<LQ	0,98±0,02	0,06±0,01	<LQ	<LQ
5	1,1±0,03	1,06±0,02	<LQ	<LQ	0,5±0,01	0,22±0,03	<LQ	<LQ

Tableau 31. Comparaison des deux méthodes d'analyse pour 5 différents échantillons d'eau de piscine, unité en mg Cl₂.L⁻¹.

II.4. Réaction des espèces réactives du chlore et du brome avec l'ABTS et détection directe par spectrophotométrie

La réaction de l'ABTS avec les chloramines et avec le chlore libre a été étudiée dans la partie précédente sur l'optimisation de la réaction post-colonne pour notre système MSC. Cependant, nous avons montré que les bromamines réagissaient comme les chloramines dans les conditions expérimentales proposées, et nous avons décidé de réétudier la réaction de l'ABTS avec les différentes espèces réactives chlorées (chlore libre et chloramines) et bromées (brome libre et bromamines) afin de voir s'il était possible de trouver des conditions expérimentales pour distinguer ces différentes espèces. En effet, très peu de méthodes permettent de différencier le chlore libre du brome libre, les chloramines des bromamines ou le brome libre des bromamines avec une bonne sensibilité. Ce chapitre présente les résultats obtenus pour la réaction de l'ABTS avec ces espèces réactives en jouant notamment sur le pH ou le tampon utilisé pour la réaction.

II.4.1. Etude des conditions expérimentales

Plusieurs expériences ont été effectuées afin de tester la réaction entre le chlore, le brome, les chloramines et les bromamines en présence d'ABTS à différents pH en utilisant le tampon phosphate (pH 1,5 jusqu'à pH 7) pour étudier en premier lieu l'effet du pH sur la réaction entre ces composés. Ces expériences ont été effectuées en utilisant la méthode en microplaque avec détection spectrophotométrique à 405 nm, afin d'augmenter le nombre d'expériences d'optimisation, de minimiser la consommation des produits et d'étudier facilement la cinétique des réactions (à la fois le temps nécessaire pour atteindre la réponse maximale ainsi que la stabilité du produit formé avec l'ABTS).

Tout d'abord, et comme cela a déjà été présenté dans la partie 3 de ce chapitre, les réactions entre l'ABTS et tous les composés chlorés et bromés sont totales et rapides en présence d'acide chlorhydrique à 0,8 M (temps de réaction totale entre 20 et 30 secondes). Dans ces conditions expérimentales, la réponse finale indique donc le total du chlore et du brome résiduel (Cl_2 , Br_2 , NH_2Cl , NHCl_2 , NCl_3 , NH_2Br , NHBr_2 et NBr_3), exprimé en $\text{eq}(\text{Cl}_2 \text{ ou } \text{Br}_2) \cdot \text{L}^{-1}$ (d'après la stœchiométrie des réactions de l'ABTS avec ces espèces)

en utilisant l'absorptivité molaire du produit $ABTS^{\circ+}$. Ceci est cohérent avec les résultats obtenus par Pinkernell et al, en 2000 [83] en milieu acide.

Nous avons également montré dans la partie 3 de ce chapitre que la MCA pouvait être distinguée du chlore libre en ajustant le pH du tampon phosphate à 3. Cette étude a été étendue ici à l'ensemble des chloramines, ainsi que pour les espèces bromées. Les trois chloramines (MCA, DCA et TCA) ne réagissent plus avec l'ABTS à ce pH (détection uniquement du chlore libre pour les espèces chlorées), au contraire du brome libre et des bromamines (MBA, DBA et TBA) qui réagissent comme le chlore libre (Figure 36).

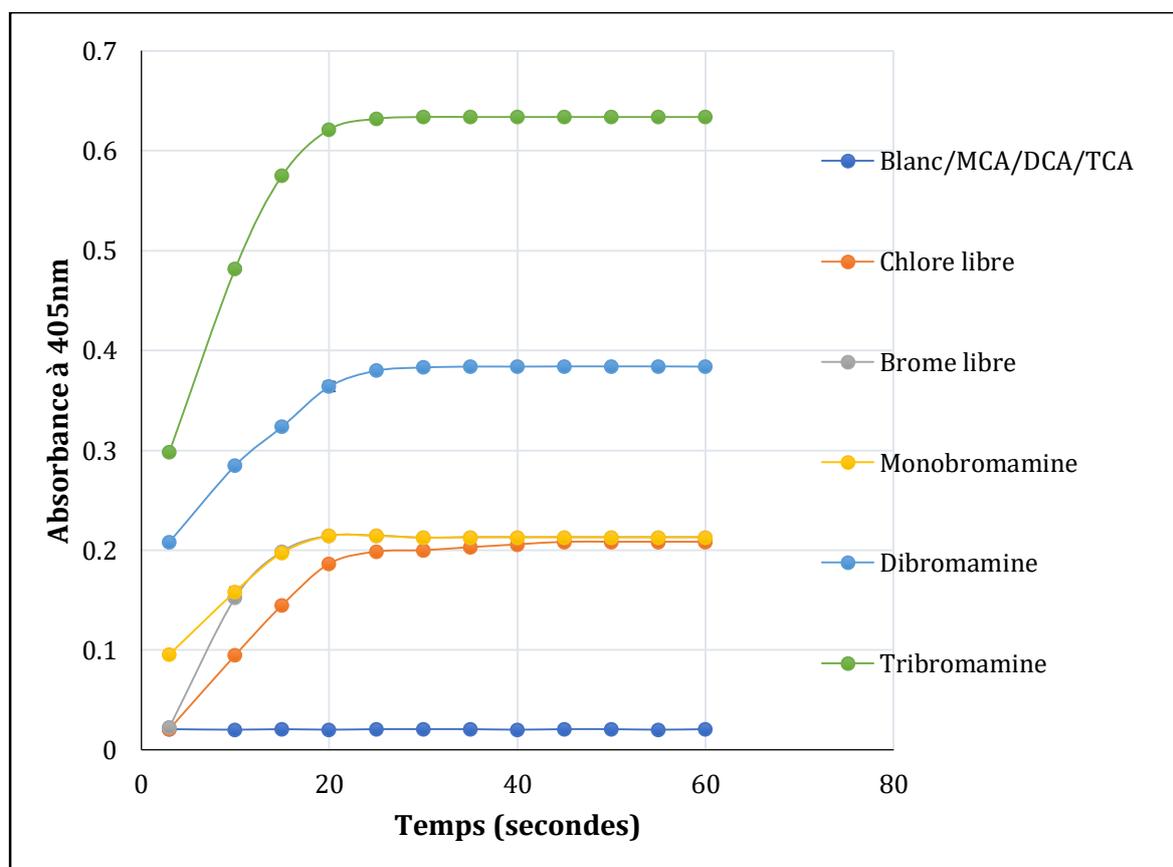


Figure 36. Cinétique de la réaction entre les espèces de chloramines et de bromamines inorganiques et l'ABTS en présence du tampon phosphate pH 3. (Conditions expérimentales : 1 mL ABTS 250 μ M + 1 mL Tampon phosphate pH 3 + 1 mL échantillon 10^{-5} M).

Le pH du tampon phosphate a ensuite été augmenté jusqu'à ce qu'on trouve une différence de réactivité entre ces trois formes (chlore et brome libre, bromamines). De façon très intéressante, l'utilisation d'un tampon phosphate 25 mM à pH 7 montre que le chlore libre ne réagit presque plus à partir de ce pH, au contraire des espèces bromées

qui permettent encore de former le radical $ABTS^{\circ+}$ et donc d'avoir une réponse en absorbance à 405 nm (Figure 37).

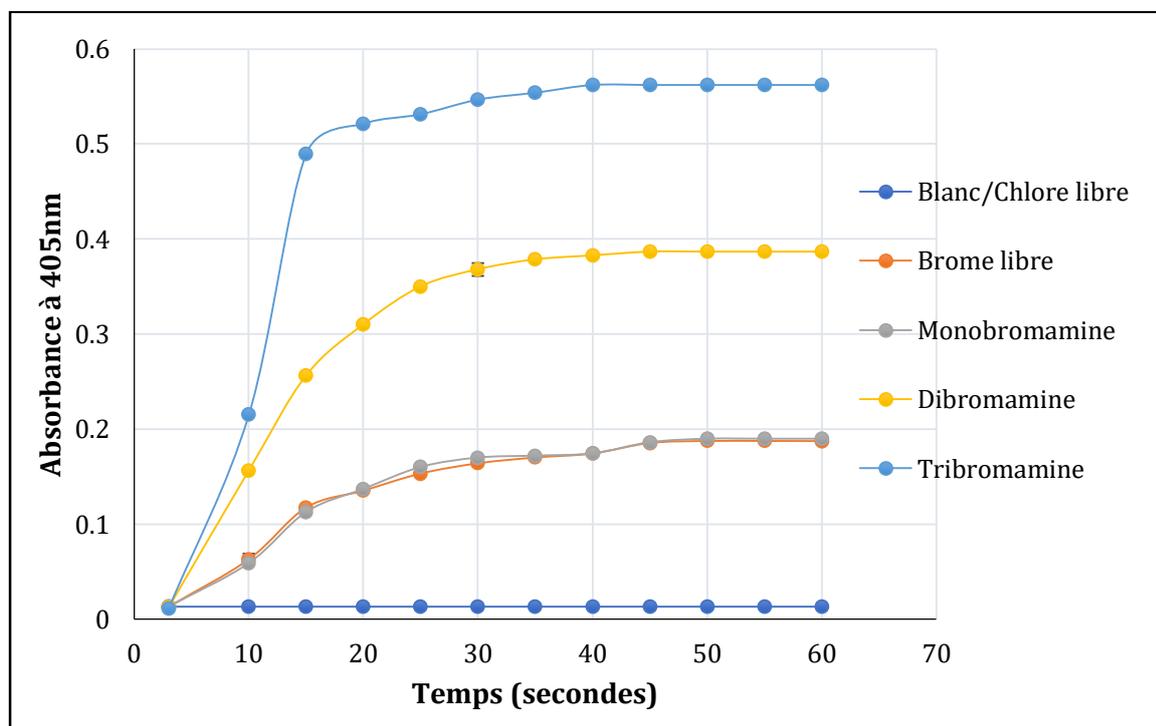


Figure 37. Cinétique de la réaction entre le chlore libre, les bromamines inorganiques et l'ABTS en présence du tampon phosphate pH 7. (Expérience : 1 mL ABTS 250 μ M + 1 mL Tampon phosphate pH 7 + 1 mL échantillon 10^{-5} M).

Aucune condition n'a pu être trouvée pour différencier le brome libre des bromamines avec le tampon phosphate, ces deux espèces présentant des réactivités très proches. De nombreuses autres conditions ont été testées (autres tampons, ajout de molécules pouvant masquer le brome libre...), seul le tampon MES (acide 2-(N-morpholino) éthanosulfonique) a montré une réactivité légèrement différente pouvant être exploitée.

En effet, le brome libre réagit très vite avec l'ABTS en présence de ce tampon, alors que les bromamines présentent des cinétiques de réaction un peu plus lentes dans ces conditions. Les temps de réaction étant très courts, l'analyse par cinétique de réaction n'était plus possible en microplaque (le délai d'activation de la mesure est autour de 10 secondes en utilisant notre lecteur microplaque). Les expériences ont donc été réalisées directement dans une cuve dans un spectrophotomètre traditionnel. L'acquisition de l'absorbance à longueur d'onde fixe (405 nm) a été lancée dès l'ajout du réactif ABTS dans

l'échantillon tamponné avec un pas d'acquisition de 0,1 seconde. Les résultats sont présentés dans la Figure 38.

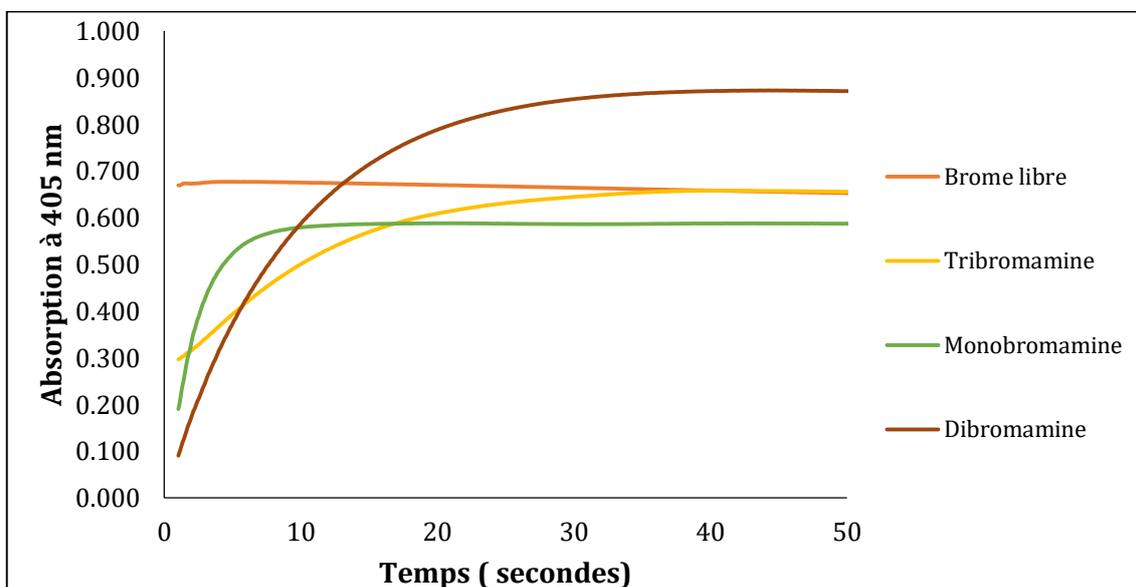


Figure 38. Cinétiques des réactions entre les espèces du brome résiduel et l'ABTS en présence du tampon MES 0,1 M pH 7. $[\text{BrO}^-] = 4,65 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{NH}_2\text{Br}] = 3,8 \times 10^{-5} \text{ M}$, $[\text{NHBr}_2] = 5,83 \times 10^{-5} \text{ M}$ et $[\text{NBr}_3] = 4,65 \times 10^{-5} \text{ M}$ ($\text{M} = \text{mol eq}(\text{Br}_2) \cdot \text{L}^{-1}$).

Les points de mesure entre 0 et 1 seconde ont été éliminés car ils correspondent au mélange entre les deux solutions (l'échantillon tamponné et l'ABTS) et la mesure de l'absorbance est fortement perturbée. L'extrapolation de l'absorbance à $t = 0 \text{ s}$ pour la mono- et la dibromamine (en utilisant la pente de la courbe entre 1 et 2 secondes) donne une absorbance proche de 0, ce qui montre que la réponse extrapolée à $t = 0 \text{ s}$ pourrait permettre de quantifier le brome libre séparément des bromamines (en utilisant un coefficient d'absorption molaire, calculé sur une solution de brome libre de concentration connue, de $14\,900 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ dans ces conditions de pH et de tampon). La solution de tribromamine testée (préparée avec un rapport $(\text{Br})/(\text{N})$ égale à 2,5) contient du brome libre, ce qui explique le fait que l'absorbance extrapolée à $t = 0 \text{ s}$ ne soit pas nulle pour cette solution. A partir de 1 s, le brome libre donne une réponse stable, alors que les bromamines nécessitent un temps plus important pour atteindre la fin de la réaction avec l'ABTS, dépendant du type de bromamines. La vitesse de réaction diminue avec le nombre d'atomes de brome sur l'azote, l'étude de la vitesse de la réaction (donc de la pente de la courbe) pourrait donc permettre de distinguer le type de bromamines présentes dans l'échantillon (mono, di ou tri). La différence entre l'absorbance à 45 secondes et

l'absorbance extrapolée à 0 seconde donnerait accès à la concentration totale en bromamines (indépendamment du chlore libre). Ces expériences devront être renouvelées et approfondies pour confirmer ces résultats très intéressants pour les espèces du brome.

Pour résumer, les conditions présentées dans le Tableau 31 peuvent être proposées pour différencier les différentes espèces réactives du chlore et du brome. Cette étude permet de lever certains verrous techniques liés à l'utilisation de l'ABTS et mentionnés dans les travaux de Pinkernell et al. en 2000 [83], notamment la difficulté à séparer le chlore libre du brome libre, ou le brome libre des bromamines.

Milieu	pH	Composé analysé
HCl 0,8 M	1.2	Cl ₂ + Br ₂ + Chloramines + Bromamines
Tampon phosphate 10 mM	3	Cl ₂ + Br ₂ + Bromamines
Tampon phosphate 25 mM	7	Br ₂ + Bromamines
Tampon MES 0,1M	7	Br ₂ à t = 0 s (extrapolé) et les bromamines par différence entre t = 45 s et t = 0 s.

Tableau 32. Conditions expérimentales proposées en présence de l'ABTS pour différencier les différentes espèces du chlore et du brome résiduel.

II.4.2. Performances analytiques

L'étude des caractéristiques analytiques a été effectuée en traçant les courbes d'étalonnage pour chacun des composés étudiés, et en calculant les limites de détection à partir d'essais répétés à blanc (n=6). Les deux tableaux suivants (Tableaux 32 et 33) présentent les limites de détection calculées pour chaque composé par les différentes méthodes spectrophotométriques directes. Le calcul pour les solutions de TCA et de NBr₃ correspond au mélange des différentes espèces dans les solutions standards (chlore ou brome libre et DCA ou DBA), des solutions standards pures n'ayant pas pu être obtenues.

Le tableau 33 présente les limites de détection obtenues pour le chlore libre avec les deux réactifs ABTS/HCl 0,8M et l'ABTS/Tampon phosphate pH 3, ainsi que celles obtenues avec le réactif ABTS/HCl 0,8M pour les chloramines inorganiques. En milieu très acide (HCl 0,8 M), d'excellentes limites de détection autour de 5 $\mu\text{g Cl}_2\cdot\text{L}^{-1}$ peuvent être obtenues, deux fois inférieures à celles reportées pour la DPD et identiques à celles reportées par Pinkernell et al. en 2000 [83]. L'augmentation de la LD à pH 3 est due à la diminution du coefficient d'absorption molaire du radical $\text{ABTS}^{\circ+}$, conduisant à une sensibilité inférieure.

	HOCl	NH ₂ Cl	NHCl ₂	NCl ₃
Réactif ABTS				
HCl 0.8 M				
LD ($\mu\text{g Cl}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	5.3	5.1	5.2	4.5
Tampon phosphate 10 mM pH 3				
LD ($\mu\text{g Cl}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	8.0	-	-	-

Tableau 33. Caractéristiques analytiques concernant les espèces du chlore résiduel. A : absorbance, C : concentration.

Pour les espèces du brome (Tableau 33), les LD (exprimées en $\mu\text{g Br}_2\cdot\text{L}^{-1}$) sont un peu plus importantes à cause de la différence en masse molaire entre le chlore et le brome. Elles restent cependant toujours en-dessous ou proches de 50 $\mu\text{g Br}_2\cdot\text{L}^{-1}$, ce qui permet de conclure à la bonne sensibilité de ces méthodes développées avec le réactif ABTS.

	HOBr	NH ₂ Br	NHBr ₂	NBr ₃
Réactif ABTS				
HCl 0.8 M				
LD ($\mu\text{g Br}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	9,8	10,9	11,02	10,3
Tampon phosphate 10 mM pH 3				
LD ($\mu\text{g Br}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	17,0	17,9	22,5	17,5
Tampon phosphate 25 mM pH 7				
LD ($\mu\text{g Br}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	35.7	34,0	52,1	51,8
Tampon MES 0,1 M pH 7				
LD ($\mu\text{g Br}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	38,6	39,6	41,4	42,1

Tableau 34. Caractéristiques analytiques concernant les espèces du brome résiduel. A : absorbance, C : concentration.

II.5. Conclusion du chapitre

Ce chapitre a présenté le développement de nouvelles méthodes d'analyse pour les chloramines et les bromamines inorganiques dans les eaux. Deux types de méthodes ont été étudiées : une basée sur l'utilisation d'un système d'analyse en flux de type MSC, permettant la spéciation des chloramines inorganiques avec des limites de détection autour de $10 \mu\text{g Cl}_2\cdot\text{L}^{-1}$ (détection par spectrophotométrie ou spectroscopie de fluorescence), et une autre reposant sur l'utilisation directe du réactif ABTS pour distinguer les différentes espèces réactives du brome et du chlore [184]. Ces méthodes sont simples à mettre en œuvre et donnent de nouveaux outils d'analyse performants pour les chloramines et les bromamines, alternatifs à l'utilisation du MIMS beaucoup plus complexe et coûteux à utiliser. Ces systèmes pourraient également être appliqués dans le futur comme analyseurs de terrain ou comme analyseur en ligne pour ces composés.

CHAPITRE III

**Développement d'une méthode d'analyse
des trihalométhanés**

CHAPITRE III : Développement d'une méthode d'analyse des trihalométhanes

III.1. Introduction

Les trihalométhanes (THM) sont des sous-produits de désinfection qui peuvent se former à la suite des réactions entre le chlore libre et les composés organiques présents dans les eaux afin de les désinfecter (eaux destinées à la consommation humaine, eaux de piscines ou eaux de refroidissement). La recherche bibliographique dans le chapitre I montre que ces composés sont les sous-produits de désinfection les plus couramment rencontrés (recherchés) dans les eaux de piscines [11]. En outre, leurs potentiels effets cancérigènes et leurs effets toxiques sur la santé humaine a obligé les pays à réguler la présence de ces composés dans les eaux et à faire évoluer régulièrement ces réglementations [185].

La plupart des méthodes développées et utilisées pour analyser les THMs dans les eaux sont basées sur l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur (à capture d'électrons ou spectrométrie de masse). Ces méthodes sont la plupart du temps performantes, mais elles restent difficilement portables et très coûteuses. D'autres méthodes basées sur la réaction de Fujiwara sont également utilisées avec des caractéristiques analytiques intéressantes pour l'analyse des THM, mais avec des étapes de chauffage (autour de 95 °C) et de refroidissement (bain de glace) qui complexifient les systèmes d'analyse [186].

Ce chapitre a pour but de présenter une nouvelle méthode d'analyse des trihalométhanes basée sur l'extraction de ces composés de l'eau vers un autre milieu (solvant organique) suivie par l'application d'une réaction de type Fujiwara que nous avons optimisée pour éliminer les étapes de chauffage et de refroidissement. Le but est de développer un analyseur en ligne automatisé en utilisant les technologies d'analyse en flux pour quantifier les trihalométhanes dans les eaux avec des limites de détection suffisamment faibles et sans interférences d'autres composés, réactifs à la méthode de Fujiwara (acides haloacétiques, tétrachloroéthylène, trichloréthylène).

L'optimisation des conditions expérimentales concernera principalement les deux étapes clés de l'analyse, à savoir :

- La méthode de dérivation des THM par un procédé de type Fujiwara, en utilisant un milieu réactionnel optimisé pour réduire la température de réaction et ainsi être facile à appliquer avec un système d'analyse en flux.
- Une étape préalable d'extraction et de préconcentration, testée par différentes méthodes pour faire passer les THM dans le solvant organique utilisé. Cette étape aura pour but d'éliminer certaines interférences et d'obtenir des limites de détection satisfaisantes.

Enfin, ce chapitre présentera un exemple de système automatisé envisagé pour analyser les trihalométhanes dans les eaux en se basant sur les deux étapes précédentes.

III.2. Matériels et méthodes

III.2.1. Réactifs et solutions

Tous les produits chimiques de qualité analytique ont été utilisés sans purification supplémentaire.

Le diméthylsulfoxyde (DMSO), la pyridine, le nicotinamide, le pyrrole, la diméthylpyridine, l'*o*-phénanthroline, l'acide picolinique, la 8-hydroxyquinoline, le 2,2' dipyridil et l'acide nicotinique ont été achetés chez Sigma-Aldrich, le 2,2' dipyridilsulfide vient de chez Alfa-Aesar. Le chloroforme (CHCl_3) a été acheté chez Acros, le bromoforme (CHBr_3), le bromodichlorométhane (CHBrCl_2) et le dibromochlorométhane (CHBr_2Cl) chez Sigma-Aldrich. Les acides haloacétiques testés comme l'acide tribromoacétique (CBr_3COOH) et l'acide trichloroacétique (CCl_3COOH) ont été achetés chez Sigma-Aldrich. L'hydroxyde de sodium NaOH (Sigma-Aldrich) a été utilisé pour ajuster le pH et pour développer la réaction de Fujiwara.

Les solutions mères des trihalométhanes (chloroforme, bromoforme, bromodichlorométhane et dibromochlorométhane) ont été préparées dans le DMSO à une concentration de 1 g.L^{-1} . Ces solutions ont été conservés à $4 \text{ }^\circ\text{C}$ pour minimiser les pertes par volatilisation. Ces solutions ont ensuite été diluées soit dans l'eau ultrapure

pour étudier l'extraction de ces composés en phase aqueuse, soit dans le DMSO pour étudier l'optimisation de la réaction de Fujiwara.

Les deux solutions mères des acides haloacétiques (acide tribromoacétique et acide trichloroacétique) ont été préparées dans l'eau, puis le pH a été réglé à 7 avec la soude 0,5 M.

Des colonnes de préconcentration sur phase solide de type C18 ont été utilisées (REC18 500MG/6mL, Interchim, France).

III.2.2. Instrumentation

Les premiers tests effectués en utilisant des éléments de système d'analyse en flux ont utilisé les instruments suivants : pompe multi-seringue (BU-4-S, Crison Instruments, Alella, Barcelone, Espagne), seringues (Hamilton, Bonaduz, Suisse) et pompes solénoïdes (Takasago MTV-3-1/4UKGH, Takasago, Japon). Les différents éléments ont été connectés par des tuyaux en PTFE et contrôlés par le logiciel Autoanalysis 5.0 (Sciware System SL).

Les mesures de fluorescence en microplaque ont été effectuées sur un lecteur microplaque (Infinite M200, Tecan France SAS, France) contrôlé par le logiciel i-control™ (Tecan). La détection a été effectuée par mesure de fluorescence par le dessus à $\lambda(\text{ex}) = 535 \text{ nm}$ et $\lambda(\text{em}) = 600 \text{ nm}$. Des microplaques en polypropylène noires à fond en U ont été utilisées (Fisher Scientific, France).

Les unités de préconcentration ont été dessinées sur le logiciel Rhinoceros® 5.0 3D software (Robert McNeel & Associates Europe, Spain). Une imprimante 3D à fils Zortrax M200 (Zortrax, Pologne) a été utilisée. Les filaments adaptés sur la machine étaient en Z-PETG (Polyethylene terephthalate, résistant aux solvants organiques comme le DMSO) et en Z-ULTRAT (type ABS, Acrylonitrile butadiène styrène, peu résistant aux solvants).

III.3. Développement méthodologique

III.3.1. Optimisation de la réaction de Fujiwara

La réaction de Fujiwara a été développée dès 1914 pour analyser les composés halogénés volatils dans les eaux ; elle repose sur la réaction du chloroforme avec la pyridine en milieu basique, et est caractérisée par la formation d'un produit rouge détecté initialement par spectrophotométrie (absorption forte à 370, 420 et 540 nm) [187]. Cette méthode a subi plusieurs modifications depuis sa découverte en changeant notamment le réactif ou le mode de détection, le produit de la réaction étant caractérisé par une émission de fluorescence à 600 nm après excitation à 540 nm [187, 188]. La détection par spectrofluorométrie est considérée comme plus sensible que la détection par spectrophotométrie. Dans toutes les études publiées dans la littérature, une étape de chauffage est toujours indispensable pour que la réaction se fasse avec la pyridine ou un dérivé de ce composé.

L'optimisation de la réaction avait donc pour but de trouver des conditions réactionnelles permettant d'effectuer cette réaction à température ambiante (ou à défaut à température modérée). De nombreuses réactions organiques sont favorisées en utilisant un milieu réactionnel de type solvant organique. Différents solvants ont été testés initialement pour les réactions avec la pyridine (acétonitrile, acétate d'éthyle, alcools, diméthylsulfoxyde et diméthylformamide), seul le diméthylsulfoxyde (DMSO) a permis d'obtenir une réponse en fluorescence en présence de chloroforme. Notre optimisation a commencé par étudier la méthode de Fujiwara pour analyser les trihalométhanes dans l'eau directement (standard de chloroforme dans l'eau), en présence de DMSO dans le milieu réactionnel. Des expériences ont ensuite été réalisées en utilisant des solutions de chloroforme dans le DMSO (en ayant pour objectif d'extraire et préconcentrer les THM dans le DMSO dans une première étape) et en réoptimisant les conditions. La détection fluorimétrique a été sélectionnée en raison de sa plus forte sélectivité comparée à la spectrophotométrie. Plusieurs paramètres ont été optimisés : les réactifs à base de différents dérivés de pyridine, différentes bases, les concentrations des réactifs, et la quantité d'eau et de solvant dans le milieu.

Tous les tests ont été effectués en utilisant la microplaque à 25 °C. La détection a été effectuée à une longueur d'onde d'excitation de 535 nm et une longueur d'onde d'émission de 600 nm, ces paramètres ont été choisis après des tests de vérification des longueurs d'ondes sur le lecteur microplaque.

III.3.1.1. Réaction de Fujiwara dans l'eau

L'optimisation de la réaction de Fujiwara pour analyser les échantillons de trihalométhanes préparés dans l'eau a été effectuée en testant plusieurs conditions. La pyridine a été utilisée pour ces tests car c'est le réactif qui a donné les meilleures réponses en fluorescence lors des toutes premières expériences.

Le DMSO étant le seul solvant ayant favorisé une réaction à température ambiante, la pyridine a été préparée dans ce solvant à différents pourcentages (entre 10 et 50 %). Différentes concentrations et différents volumes de soude ont par ailleurs été testés. Les premières expériences ont également montré qu'un volume trop important d'échantillon aqueux diminuait fortement la réponse en fluorescence. Ainsi, le volume d'eau dans le milieu (échantillon + base) devait à priori rester faible en comparaison du volume de phase organique.

Le nombre de paramètres pouvant influencer la réponse étant assez importants, nous avons décidé de commencer par faire un plan de criblage pour déterminer les facteurs les plus importants affectant la variable de réponse. Le logiciel de statistiques Statgraphics a été utilisé. Plusieurs paramètres ont été étudiés dans ce plan de criblage : le volume d'échantillon, le pourcentage de pyridine dans le DMSO et la concentration de la soude (NaOH) à ajouter. Le volume de la solution de pyridine dans le DMSO a été fixé à 200 μ L, le volume de soude à 10 μ L pour minimiser l'apport d'eau par la solution de soude. Un plan composé de 36 expériences a été effectué pour le chloroforme (Figure 39) et pour le bromoforme (Figure 40) (afin de voir si les effets étaient les mêmes sur les composés chlorés et bromés), soit un total de 72 expériences.

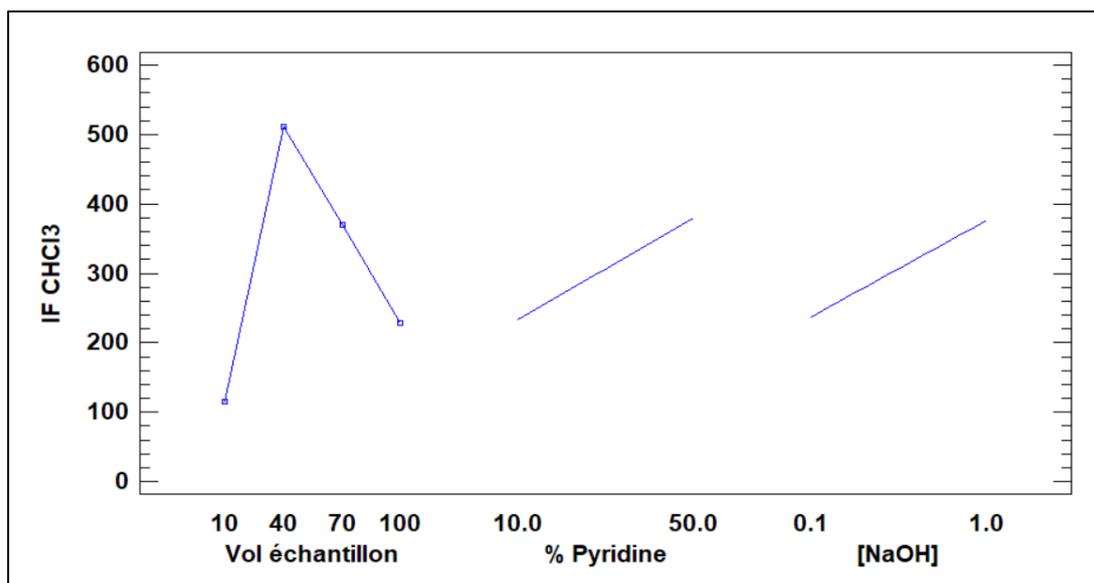


Figure 39. Influence des paramètres sur la réponse en fluorescence avec le chloroforme CHCl_3 ($20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Expérience : $200 \mu\text{L}$ pyridine dans DMSO + $10 \mu\text{L}$ NaOH + $X \mu\text{L}$ échantillon.

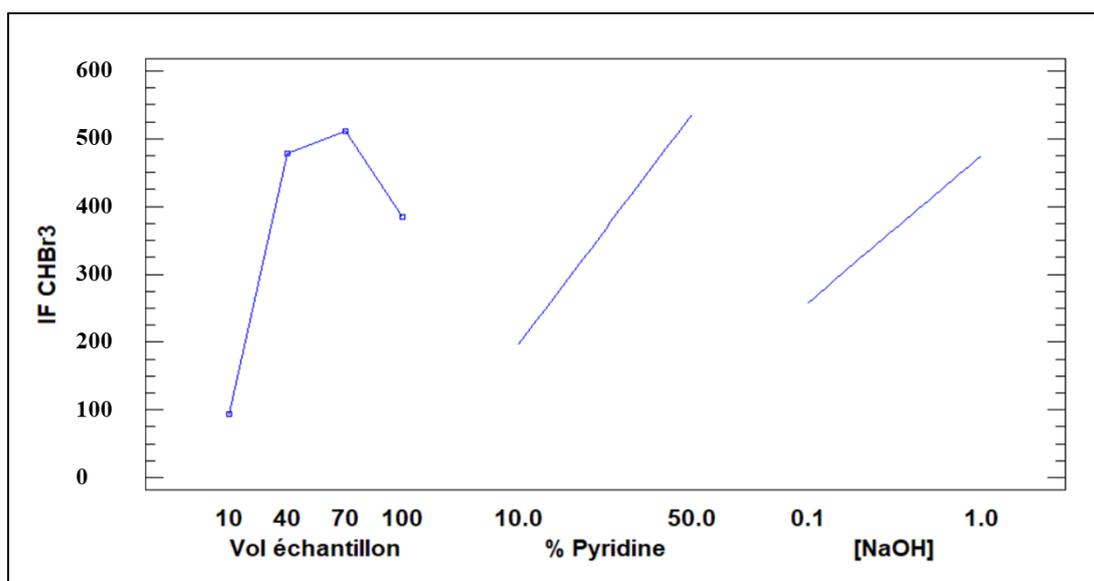


Figure 40. Influence des paramètres sur la réponse en fluorescence avec le bromoforme CHBr_3 ($20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Expérience : $200 \mu\text{L}$ pyridine dans DMSO + $10 \mu\text{L}$ NaOH + $X \mu\text{L}$ échantillon.

D'après ces graphiques, une tendance générale peut être donnée sur l'influence des 3 facteurs étudiés. Des concentrations de soude et de pyridine importantes semblent favoriser la réaction. L'influence du volume d'échantillon a confirmé nos premières observations, le volume ajouté d'échantillon contenant l'eau ne doit pas dépasser un pourcentage déterminé, une diminution de la réponse en fluorescence étant observée à

partir d'un volume supérieur à 30 ou 50 μL . Ceci montre deux effets opposés de l'augmentation du volume d'échantillon : une augmentation de la quantité d'analyte (chloroforme), favorable à la réaction, et une augmentation parallèle du volume d'eau (% de phase aqueuse), défavorable à la réaction.

A la suite de ce plan de criblage initial, des tests ont été effectués pour étudier plus précisément chaque paramètre. Tout d'abord, les différents volumes ont été fixés : 30 μL pour l'échantillon, 10 μL pour la base et 200 μL pour la solution de pyridine dans le DMSO. Ceci permettait de fixer le % de phase aqueuse pour ne pas avoir d'influence de ce paramètre.

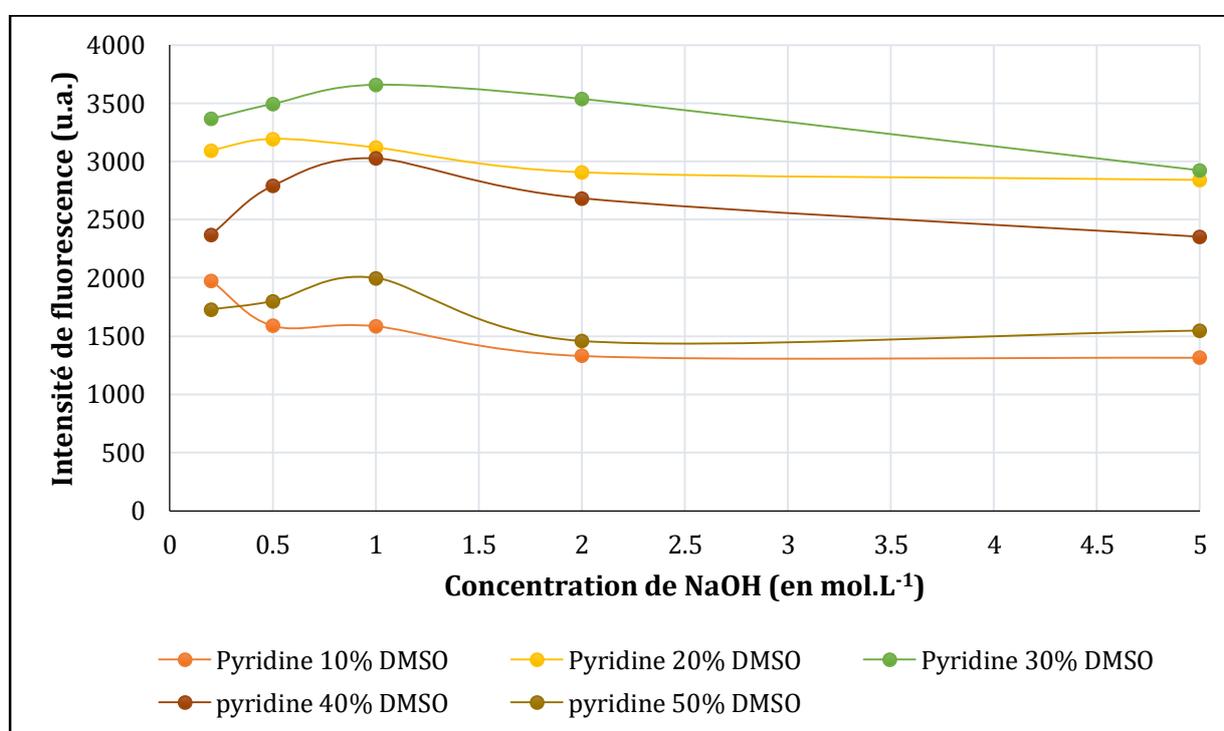


Figure 41. Intensité de fluorescence obtenue pour chaque expérience (pourcentage de pyridine dans le DMSO fixé) en fonction de la concentration de NaOH (en mol.L⁻¹). Expérience : 200 μL pyridine dans DMSO + 10 μL NaOH + 30 μL échantillon CHCl_3 (100 mg.L⁻¹).

Les résultats présentés dans la Figure 41 montrent une amélioration de l'intensité du produit fluorescent avec la pyridine à 30% dans le DMSO, quelle que soit la concentration de la soude. Une augmentation du % de pyridine au-delà de ce seuil entraîne une diminution nette de la fluorescence, probablement due à la diminution parallèle du volume de DMSO dans le milieu. La concentration de la soude a une influence finalement assez faible, une concentration de 1 M semblant donner les meilleurs résultats. A noté

que le blanc a été testé pour chaque expérience, la réponse en fluorescence pour chaque condition a été au-dessous de 10.

Suite aux résultats obtenus, nous avons décidé d'étudier l'influence du volume de phase aqueuse sur la réponse, indépendamment de la quantité d'analyte et de soude. Pour cela, nous avons fixé les volumes de réactif pyridine, d'échantillon et de soude, et nous avons rajouté de l'eau dans le milieu pour faire varier ce volume de phase aqueuse (volume de phase organique fixe).

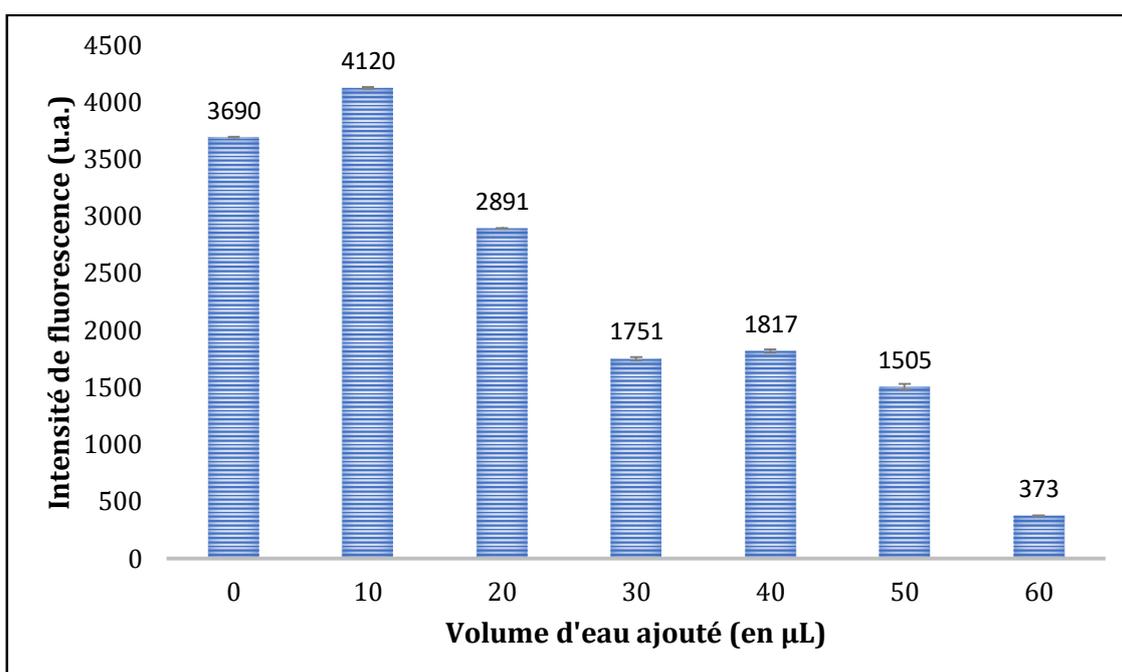


Figure 42. Intensité de fluorescence obtenue en fonction du volume d'eau ajouté (en µL).
Expérience : 200 µL pyridine 30% DMSO + 10 µL NaOH 1 mol.L⁻¹ + x µL Eau + 20 µL échantillon (CHCl₃ 100 mg.L⁻¹).

Les résultats (Figure 42) montrent une amélioration en intensité de fluorescence lors de l'ajout de 10 µL d'eau, suivie par une diminution de la réponse lors d'un ajout de volume supérieur. Les meilleurs résultats sont donc obtenus avec un volume de phase aqueuse de 40 µL (échantillon + soude + eau ajouté), correspondant à un % de phase aqueuse d'environ 20 % (volume total = 240 µL), cohérent avec les résultats trouvés précédemment. Le volume d'échantillon final a donc été fixé à 30 µL.

Une dernière optimisation a été effectuée pour étudier l'influence de l'ordre d'ajout des réactifs sur la réponse obtenue (Figure 43). Les résultats ont montré que l'échantillon devait être ajouté en dernier, après le mélange de la pyridine et de la soude. L'ajout de la

soude avec le chloroforme avant la pyridine a un fort effet négatif, ceci étant probablement dû à une perte du carbène généré avant réaction avec la pyridine.

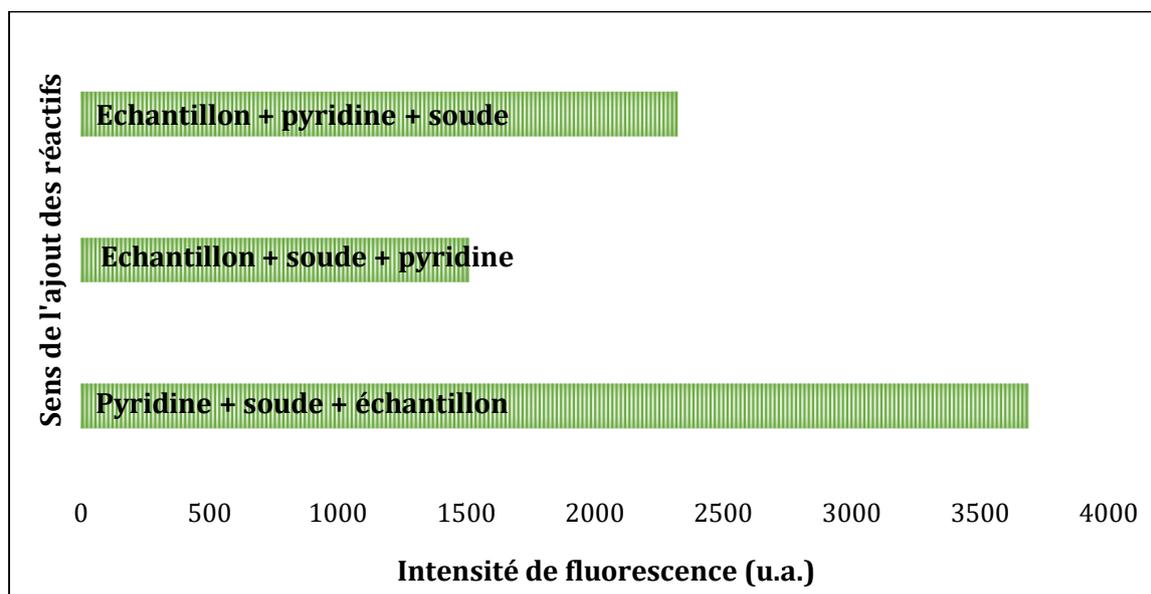


Figure 43. Intensité de fluorescence obtenue en fonction du sens de l'ajout des réactifs optimisés. Expériences effectuées en utilisant les conditions suivantes : 200 μL pyridine 30% dans DMSO, 10 μL de NaOH 0,5M, et 30 μL CHCl_3 ($100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

Différents dérivés de la pyridine (Figure 44) ont été testés pour remplacer la pyridine, composé ayant une forte odeur et potentiellement toxique à forte dose. Ces réactifs ont été testés dans des conditions similaires à celles optimisées pour la pyridine, en faisant varier la concentration de la soude (0,2 et 5 M) et le volume d'échantillon (30 et 100 μL) pour voir si des conditions favorables pouvait être trouvées pour ces réactifs. De façon assez surprenante, aucun dérivé de la pyridine n'a donné de réponse satisfaisante en comparaison de la pyridine. La nicotinamide est pourtant connue pour donner des fortes réponses de fluorescence en chauffant [26], mais ce dérivé n'a présenté aucune réactivité en présence de DMSO. Ces résultats s'expliquent sans doute par l'influence des groupements substituants sur le cycle pyridine, empêchant l'ouverture du cycle à température ambiante (la formation du produit fluorescent passe par une étape d'ouverture du cycle, d'après le mécanisme décrit dans le chapitre 1). D'autres conditions ont été aussi testées, en remplaçant la soude utilisés (NaOH) par d'autres bases comme l'hydroxyde de tétra-n-butylammonium ($n\text{-Bu}_4\text{NOH}$), sans amélioration notable de la réponse fluorescente obtenue.

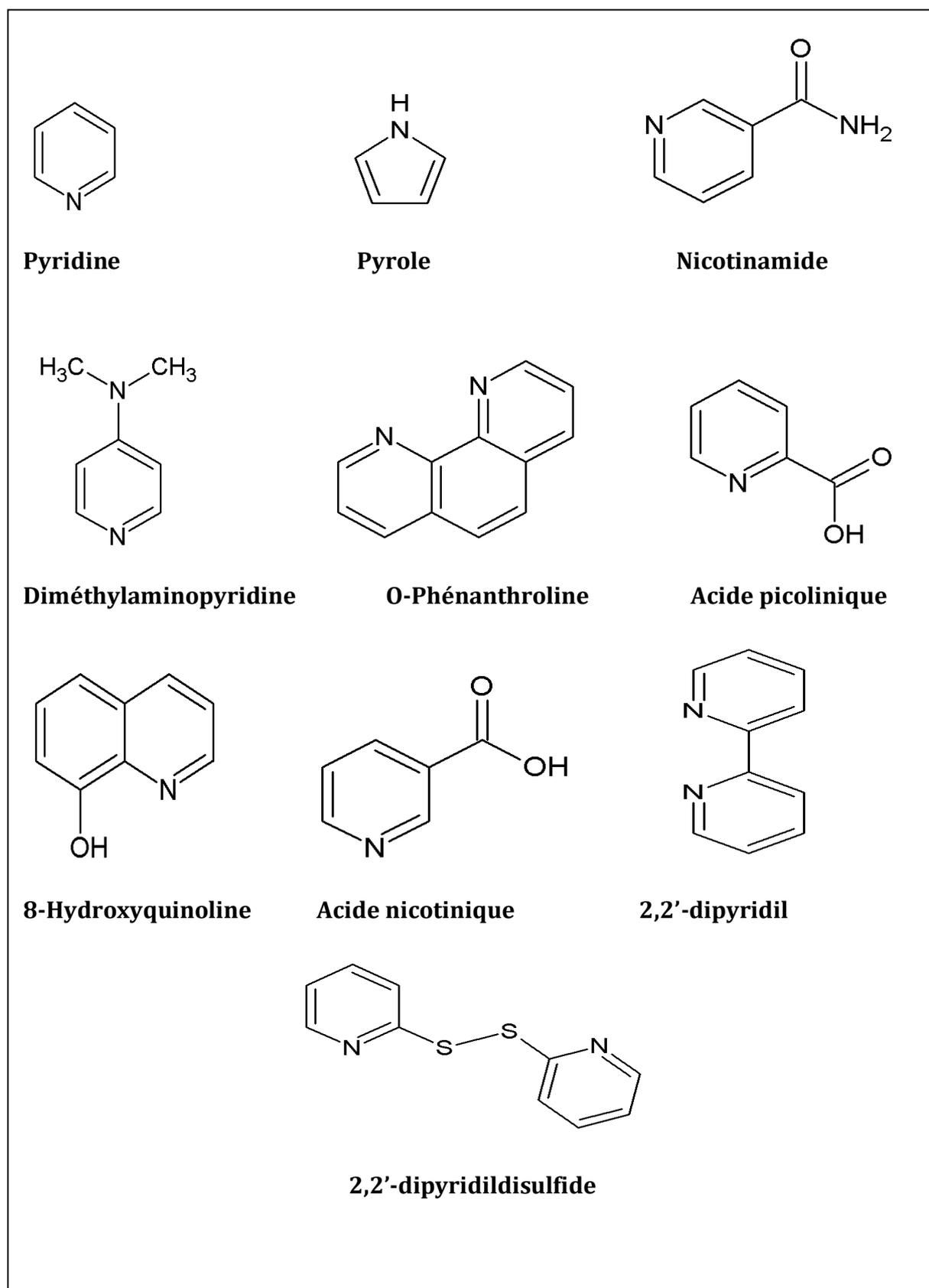


Figure 44. Structures chimiques des dérivés de pyridine testés pour la réaction de Fujiwara.

Pour finaliser cette partie, les conditions précédemment optimisées ont donc été conservées : 200 µL Pyridine 30% dans DMSO + 10 µL NaOH 0,5 M + 30 µL échantillon préparé dans l'eau. Une étude des caractéristiques analytiques avec cette méthode pour les 4 composés de THMs a été effectuée, et les résultats sont présentés dans le Tableau 34 suivant :

Paramètres	THMs
Limite de détection (en µg.L ⁻¹)	89,9
Equation de la droite	Y=3,89E +1 C+ 4,8
Coefficient de régression	0,999

Tableau 35. Caractéristiques analytiques de la réaction de Fujiwara dans l'eau pour les 4 composés de THMs. Expérience : 200 µL pyridine 30% DMSO + 10 µL NaOH 0,5 M + 30 µL échantillon.

Cette méthode de dérivation avec les THM dans l'eau est donc prometteuse, de bons résultats étant obtenus avec une réaction à température ambiante. Les limites de détection et de quantification sont cependant encore trop importantes. En effet, l'Arrêté du 19 octobre 2017 [190] relatif aux méthodes d'analyse utilisées dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux impose une limite de quantification de 5 µg.L⁻¹ par THM individuel . L'optimisation de la méthode avec les solutions standards de chloroforme dans l'eau ayant atteint ses limites, nous avons décidé d'optimiser la méthode en prenant des solutions standards de chloroforme dans le DMSO (afin d'améliorer la limite de détection). L'avantage d'utiliser ces solutions dans le DMSO est l'augmentation potentielle forte du volume d'échantillon, l'effet défavorable du % d'eau dans le milieu nous ayant limité précédemment avec les solutions standards dans l'eau.

III.3.1.2. Réaction de Fujiwara dans le DMSO

De façon similaire à l'optimisation précédente, nous avons commencé par faire un plan de criblage pour les différents paramètres influents. Le volume d'échantillon (standard dans le DMSO) a été fixé à 150 µL, et quatre paramètres ont été étudiés pour ce plan de criblage : le volume de pyridine (ajoutée pure), la concentration de la soude (10 µL

ajoutés), le pourcentage d'eau (dépendant du volume d'eau rajouté au milieu réactionnel) et la température (dans une gamme modérée, entre 25 et 42 °C). Ces tests ont été effectués pour le chloroforme (Figure 45) et le bromoforme (Figure 46).

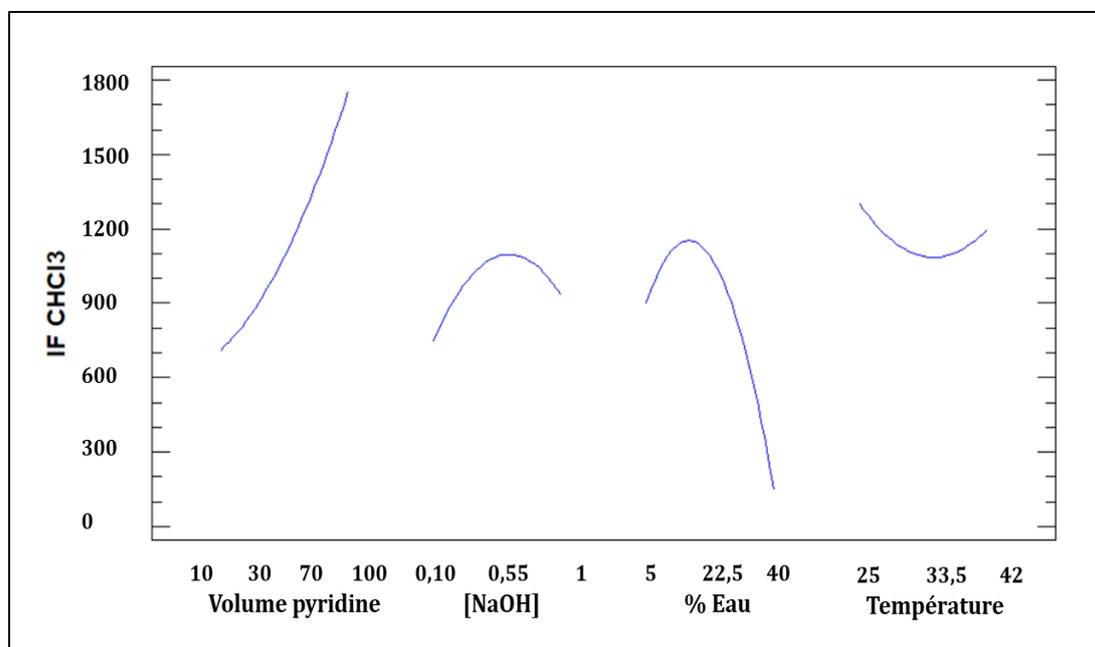


Figure 45. Influence des différents paramètres sur la réaction avec le CHCl₃ (10 mg.L⁻¹) préparé et dilué dans le DMSO. Expérience : échantillon dans DMSO + pyridine + soude + eau.

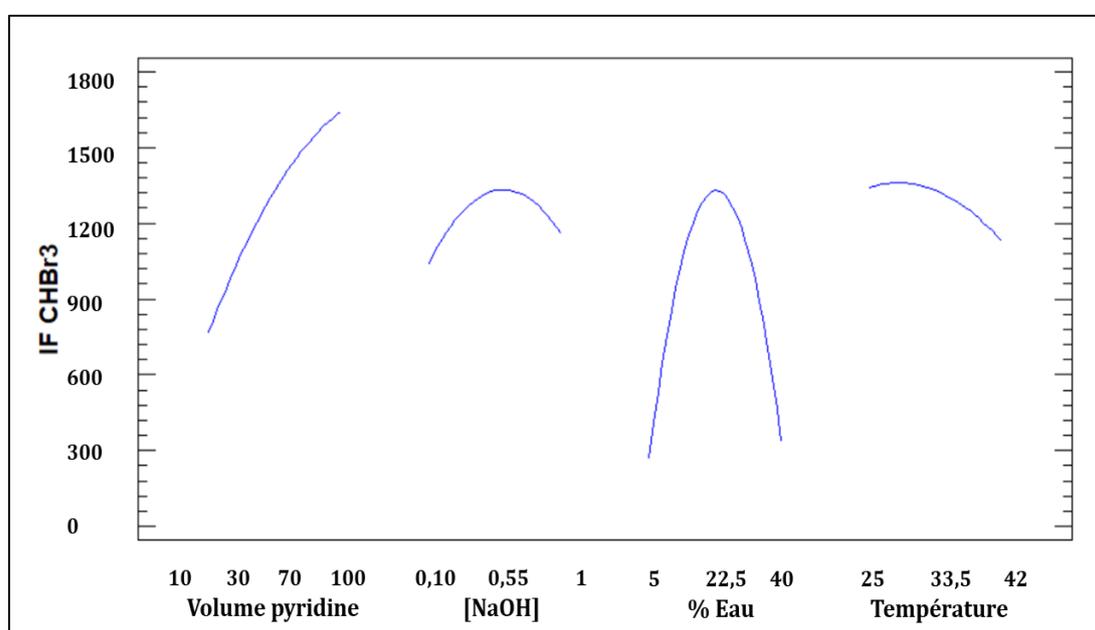


Figure 46. Influence des différents paramètres sur la réaction avec le CHBr₃ (10 mg.L⁻¹) préparé et dilué dans le DMSO. Expérience : échantillon dans DMSO + pyridine + soude + eau.

L'exploitation des résultats de ces plans de criblage permet d'obtenir des premières conclusions sur l'influence des différents paramètres étudiés. Comme attendu, la pyridine semble avoir un effet favorable sur la réaction. La concentration de la soude a un effet assez faible, au contraire du % d'eau dont l'optimisation sera indispensable par la suite, avec une valeur optimale semblant se situer autour de 20%. La température a peu d'effets également, une valeur de 25 °C donnant les meilleurs résultats. Toutes les réactions suivantes seront donc effectuées à température ambiante, ce qui présente le point le plus important dans le développement de cette nouvelle méthode de Fujiwara.

Des tests plus fins ont de nouveau été effectués pour étudier plus précisément chaque paramètre. En premier lieu, l'expérience a été effectuée en testant l'ajout de différents volumes de pyridine pure suivie par l'ajout de 10 µL de NaOH à 0,5 M, 50 µL d'eau ultrapure et 150 µL d'échantillon de THM (chloroforme ou bromoforme) à 5 mg.L⁻¹ dans le DMSO. Le blanc testé dans ces expériences était le DMSO pur et sa réponse fluorescente a toujours été au-dessous de 20.

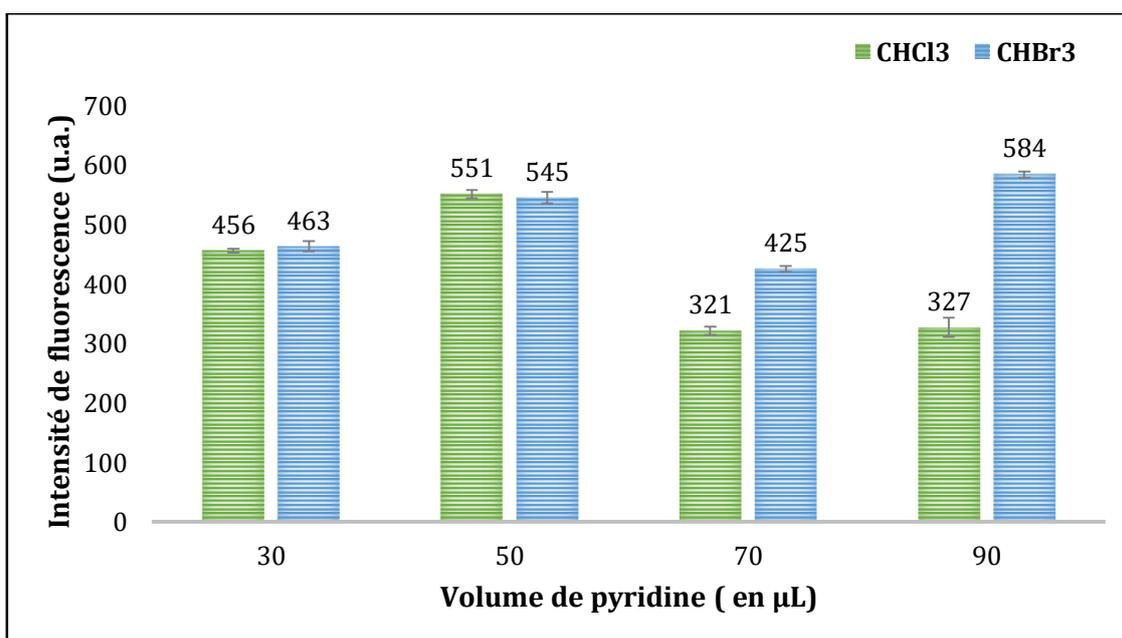


Figure 47. Influence du volume de pyridine sur la réaction de Fujiwara dans DMSO. Expérience : 150 µL échantillon (5 mg.L⁻¹) dans DMSO + volume de pyridine + 10 µL NaOH 0,5M.

Les réponses optimales ont été obtenues avec un volume de pyridine de 50 µL (proche des 30 % de pyridine dans le DMSO trouvés dans la partie précédente sur l'optimisation avec les THMs dans l'eau). Des volumes supérieurs ont montré un effet défavorable pour le chloroforme (Figure 47), et notre intérêt était de limiter le volume de pyridine pour

limiter ses effets indésirables. Avant de continuer l'optimisation de volume de chaque réactif à ajouter, un test rapide a été effectué pour étudier l'influence du sens d'ajout des réactifs. Les résultats ont montré qu'une réponse optimale était obtenue en ajoutant la pyridine puis la soude dans l'échantillon.

L'étape suivante a été d'optimiser la concentration et le volume de soude à ajouter pour améliorer la réponse fluorescente de la réaction de Fujiwara. La soude ajoutée à la solution de THM dans le DMSO (150 μL) et à la pyridine (volume fixé à 50 μL) peut avoir deux effets sur la réaction : le volume va avoir un effet direct sur le % d'eau dans la réaction, le volume et la concentration vont avoir un effet sur la quantité de base ajoutée au mélange réactionnel. Une première expérience a été menée pour étudier le premier effet (volume, donc % d'eau), en fixant la quantité de soude pour toutes ces expériences à 5 μmol (Figure 48).

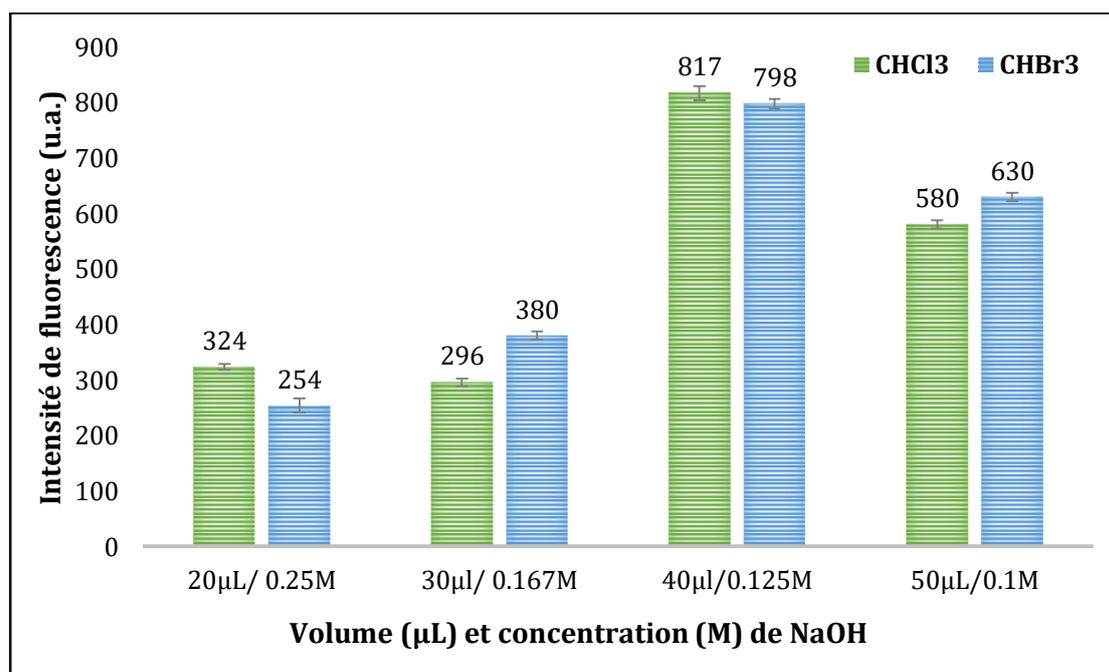


Figure 48. Influence du volume de la soude ajouté sur la réponse fluorescente de la réaction de Fujiwara dans DMSO. Expérience : 150 μL échantillon (5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) dans DMSO + 50 μL pyridine pure + X μL NaOH.

Les résultats ont indiqué un maximum de fluorescence avec un volume de soude de 40 μL , correspondant à un % d'eau d'environ 20 %. Ceci est cohérent avec les résultats obtenus dans la Figure 42 et dans la partie sur l'optimisation avec l'échantillon en phase

aqueuse. La quantité de matière de soude a ensuite été optimisée en fixant le volume de soude à 40 μL et en faisant varier les concentrations entre 0,025 et 1 M (Figure 49).

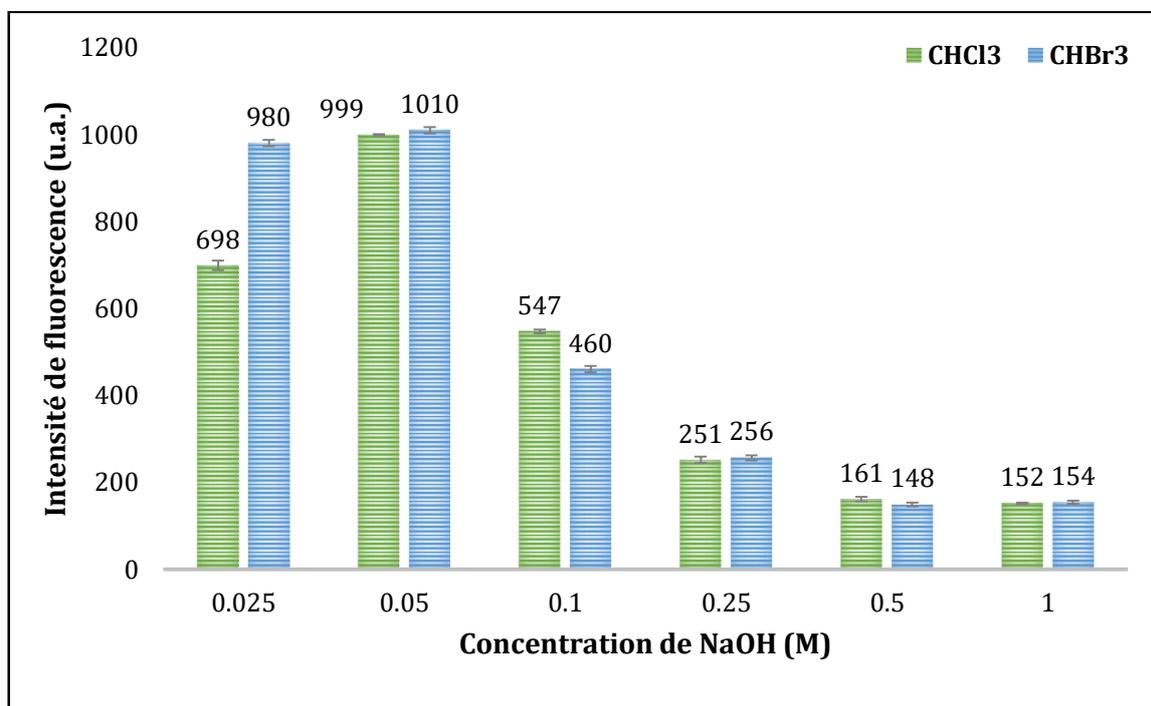


Figure 49. Influence de la concentration de la soude (M) sur la réponse fluorescente de la réaction Fujiwara dans DMSO. Expérience : 150 μL échantillon (5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) dans DMSO + 50 μL pyridine pure + 40 μL NaOH (en M).

La comparaison des résultats obtenus avec les différentes concentrations de soude a montré que la réponse la plus élevée pour les deux composés chloroforme et bromoforme a été obtenue après l'ajout de 40 μL de NaOH à une concentration de 0,05 M.

Cette optimisation a été suivie de nouveau par une optimisation du volume de pyridine en fixant les deux autres paramètres afin de vérifier la quantité de la pyridine dans les nouvelles conditions (40 μL de soude à 0,05 M), les résultats ont montré une petite amélioration lors de l'ajout de 60 μL de pyridine au lieu de 50 μL .

Par la suite, la nouvelle réaction de Fujiwara a donc été fixée selon le protocole suivant : ajout de 150 μL d'échantillon dans le DMSO suivi d'un ajout de 60 μL de pyridine pure et de 40 μL de NaOH à 0,05M. Le sens d'ajout des réactifs semble très important pour obtenir le maximum de fluorescence pour le produit formé comme indique la Figure 50.

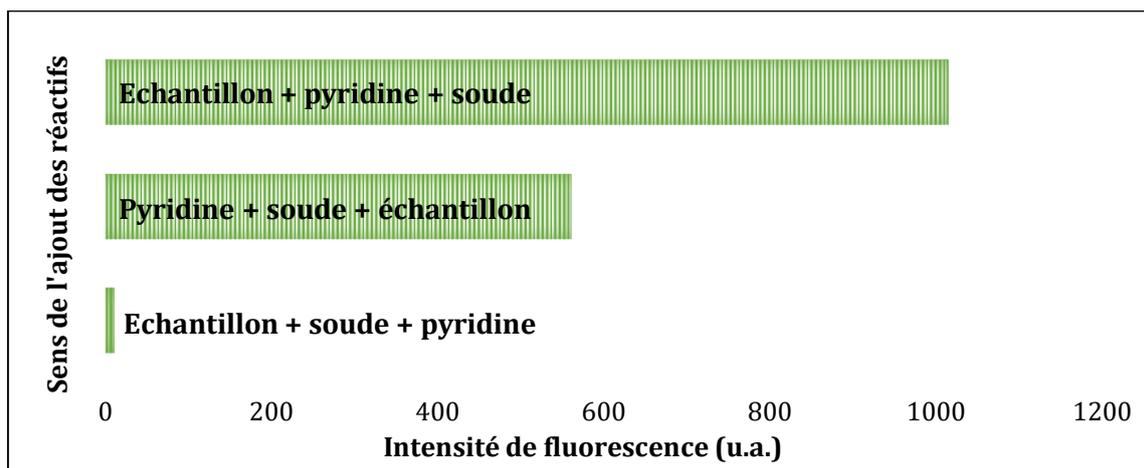


Figure 50. Influence du sens d'ajout des réactifs sur la réponse fluorescente.

Le fait d'ajouter l'échantillon dans le DMSO sur le mélange de pyridine/soude a diminué la réponse fluorescente de la réaction de moitié, et le mélange d'échantillon dans le DMSO avec la soude suivie par l'ajout de la pyridine ne permet pas la réalisation de la réaction.

Une fois ce protocole optimisé, une comparaison a été réalisée pour comparer les quatre trihalométhanes (CHCl_3 , CHBr_3 , CHCl_2Br et CHClBr_2) à une même concentration de 1 mg.L^{-1} . Les résultats présentés dans la Figure 51 indiquent que les quatre espèces donnent des réponses similaires, ce qui permet de donner les résultats obtenus en $[\text{THM}]_{\text{totaux}}$ à partir d'une calibration sur le chloroforme.

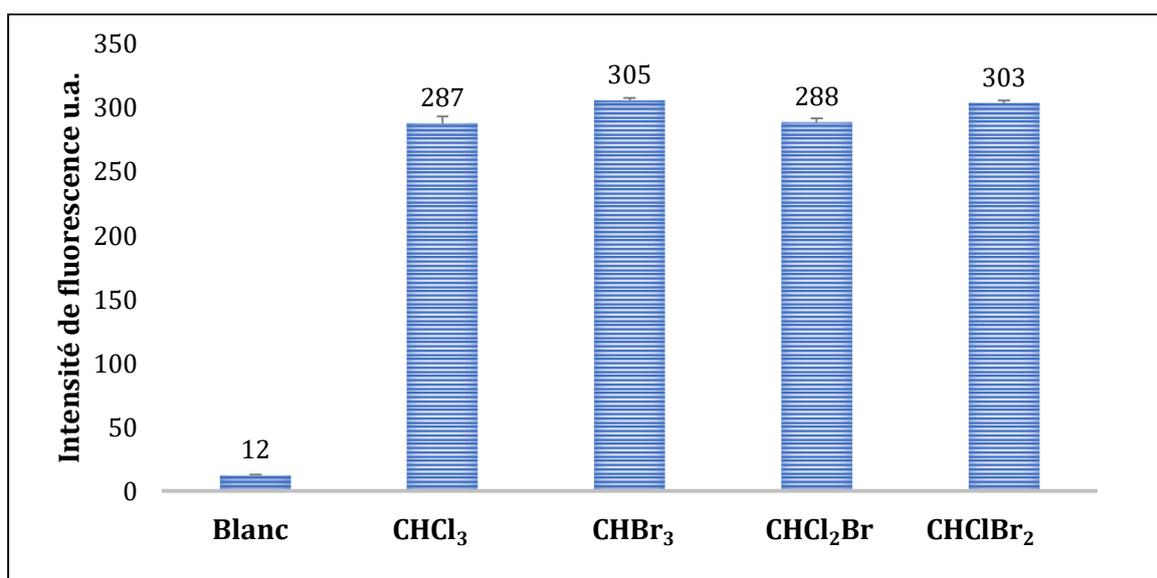


Figure 51. Comparaison de la réponse obtenue pour les quatre composés de THMs de concentration 1 mg.L^{-1} . Expérience : $150 \mu\text{L}$ échantillon dans DMSO + $60 \mu\text{L}$ pyridine + $40 \mu\text{L}$ NaOH $0,05 \text{ M}$, trois réplicats pour chaque expérience.

Une courbe d'étalonnage a été construite pour le chloroforme et la limite de détection a été calculée à partir de ces données et de la répétition de 7 blancs. Une limite de détection de 14,7 $\mu\text{g.L}^{-1}$ a été obtenue, présentée dans le tableau 35 suivant :

Paramètres	THMs
Limite de détection (en $\mu\text{g.L}^{-1}$)	14,7
Equation de la droite	$Y=299.33 C+ 13$
Coefficient de régression	0,998

Tableau 36. Caractéristiques analytiques de la réaction de Fujiwara dans le DMSO. Expériences : 150 μL échantillon dans DMSO (CHCl_3 de 0,1 à 5 mg.L^{-1}) + 60 μL pyridine + 40 μL NaOH 0,05 M.

Le Tableau 36 présente également les résultats de la réaction de Fujiwara dans le DMSO obtenus avec les THMs et les acide haloacétiques à 5 mg.L^{-1} (acide trichloroacétique TCAA et acide tribromoacétique TBAA). La réaction de Fujiwara optimisée peut donc donner également une fluorescence importante en présence de HAAs, bien que plus faible que pour les THMs. D'autres composés ont été testés (tétrachloroéthylène et trichloroéthylène), avec seulement une faible réponse pour le trichloroéthylène.

Composé (5 mg.L^{-1})	CHCl_3	CHBr_3	CCl_3COOH	CBr_3COOH	C_2HCl_3	C_2Cl_4
Intensité de fluorescence(u.a.)	1238	1220	550	780	128	12

Tableau 37. Comparaison de la réaction de Fujiwara entre les THMs et les HAAs. Expérience : 150 μL échantillon dans DMSO + 60 μL pyridine + 40 μL NaOH 0,05M.

Les performances analytiques de la méthode (notamment LD) sont donc en nette amélioration par rapport au protocole analytique avec l'échantillon dans l'eau. Cette LD reste cependant trop élevée par rapport à l'objectif fixé (moins de 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$), une étape de préconcentration sera donc nécessaire lors du passage des THM de l'eau vers le DMSO.

III.3.2. Extraction et préconcentration des Trihalométhanes

Cette étape du protocole analytique a donc plusieurs buts :

- transférer les THM des échantillons d'eau à analyser vers le DMSO (pour appliquer le protocole optimisé).
- préconcentrer les THM pour atteindre des LD suffisantes.
- éliminer les interférences des autres composés réactifs au protocole Fujiwara (notamment les HAAs).

Plusieurs méthodes d'extraction des trihalométhanes ont été testées : l'extraction avec membrane, l'extraction sans membrane et l'extraction en phase solide par colonne SPE, afin de choisir la méthode la plus efficace d'extraction.

L'extraction sans membrane a été testée en essayant de faire passer les THM de la phase aqueuse (phase donneur = échantillon de THM dans l'eau) vers la phase organique (phase accepteur = DMSO). Ceci a été réalisé sur des modules imprimés en 3D similaires aux unités de pervaporation sans membrane développés pour l'analyse de produits volatils [190, 191]. Les résultats obtenus sur le chloroforme n'ont malheureusement pas été répétables et ceux sur le bromoforme ont été très faibles (moins volatil que le chloroforme). Cette voie a donc été abandonnée et nous avons décidé de nous concentrer sur les deux autres techniques d'extraction des THM.

III.3.2.1. Extraction avec membrane

Les modules d'extraction utilisés dans cette partie avaient pour but de faire passer les THM d'une phase aqueuse vers une phase organique à travers une membrane de séparation. Une extraction liquide-liquide des THM était attendue, couplée éventuellement à une diffusion en phase gazeuse des THMs volatils à travers la membrane. Une extraction beaucoup plus faible des HAA était attendue, les HAA étant plus solubles dans l'eau et moins volatils.

Deux types de modules ont été utilisés : un module de diffusion gazeuse en PMMA (polyméthacrylate de méthyle) (Figure 52A) pouvant être utilisé pour effectuer une extraction liquide-liquide, et des modules imprimés avec une imprimante 3D à fil (Figure 52B). L'impression 3D est un procédé de fabrication additive basée sur l'idée simple de convertir un modèle numérique en un objet solide en trois dimensions. Pour l'impression de notre module on a utilisé l'imprimante 3D (Zortrax M200plus) par lequel le filament du matériel utilisé est fondu par la tête d'impression 3D et déposé sur la plateforme d'impression de l'imprimante pour créer l'objet voulu couche par couche. Pour la partie du module en contact avec le DMSO, un matériau résistant aux solvants organiques a été utilisé (Z-PETG, partie noire). L'autre partie a été imprimé avec un polymère classique de moindre résistance chimique, de type ABS (partie blanche). Le logiciel Rhinoceros® 5.0 a été utilisé pour tester différentes géométries, les modules imprimés et utilisés pour les tests sont des modules circulaires avec des canaux en spirale.

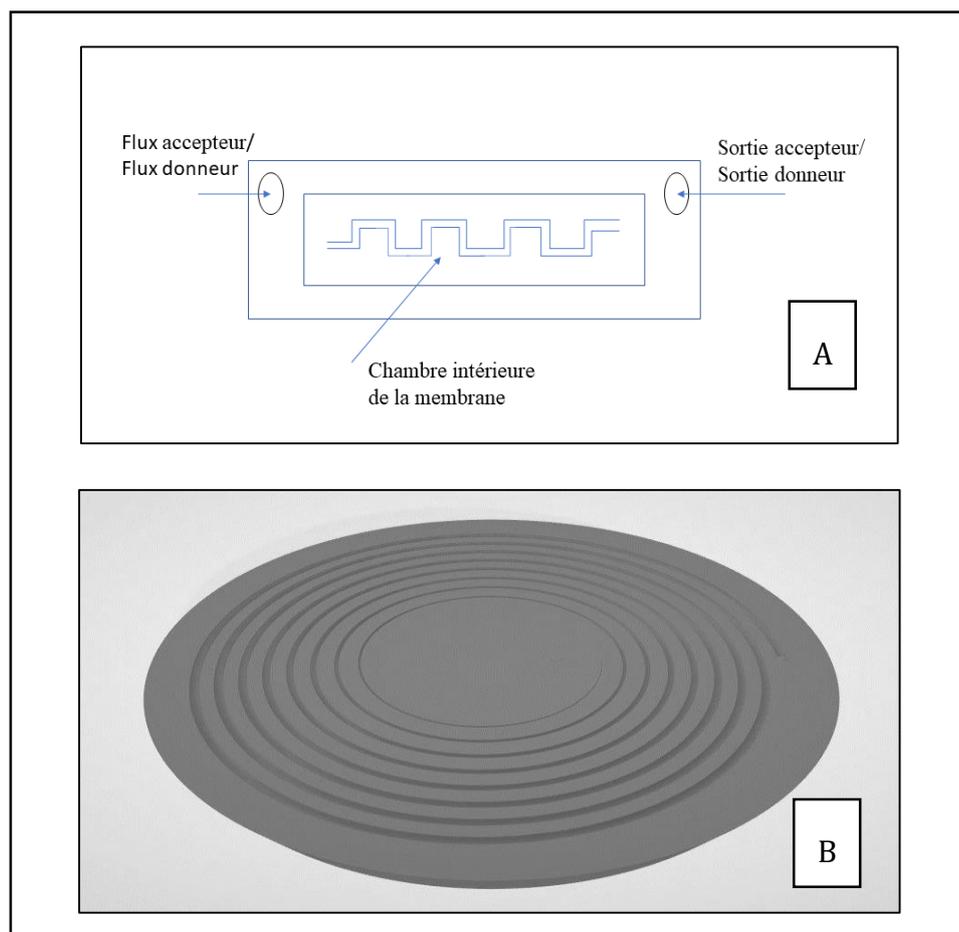


Figure 52. Schéma représentatif du module de diffusion gazeuse en PMMA (A) et du module imprimé en 3D (B) utilisés pour l'extraction des trihalométhanes avec une membrane.

Les deux types de modules sont formés de deux parties, une partie pour le flux donneur où est poussé l'échantillon aqueux, et une partie pour le flux accepteur où est poussé le DMSO, la membrane se trouve au milieu de ces deux parties. Chaque partie dispose d'une entrée et d'une sortie connectée au canal au contact de la membrane. Le module en PMMA a un volume interne de 200 μL (calculé à partir du débit de la solution poussée dans le module), le module imprimé en 3D est constitué de canaux plus longs et plus profonds, avec un volume interne de 2 mL pour chaque partie.

Différents types de membrane ont été testés pour étudier l'extraction des THMs, notamment des matériaux résistants aux solvants organiques comme le PTFE (filtres d'extraction de diamètre de pore 1,2 μm , utilisés comme membrane de séparation), le nylon (filtres d'extraction de diamètre de pore 0,45 μm) ou le silicone (feuilles de silicone de 0,3 mm d'épaisseur). Le nylon n'ayant pas donné de bons résultats d'extraction, seuls les résultats avec le PTFE et le silicone seront présentés.

Pour étudier l'extraction des trihalométhanes avec la membrane, les entrées des deux parties (donneur = échantillon, et accepteur = DMSO) ont été connectées à des seringues pilotées par une pompe multi-seringue commune, comme présenté dans la Figure 53. A noter que des tests de poussée des fluides avec une pompe péristaltique ont montré une absorption importante des THMs sur les différents tuyaux souples en Tygon utilisés.

Pour chaque expérience effectuée, les solutions sortant de chaque côté (échantillon et DMSO) ont été récupérées pour déterminer leurs concentrations en THM. Ces analyses ont été effectuées en appliquant les protocoles microplaques décrits précédemment (avec échantillon dans l'eau ou dans le DMSO, fonction du flux donneur ou accepteur). L'analyse du flux donneur a permis d'évaluer l'extraction des THMs à partir de la phase aqueuse, l'analyse du flux accepteur a permis de déterminer la concentration de THM dans le DMSO après extraction et préconcentration dans le module.

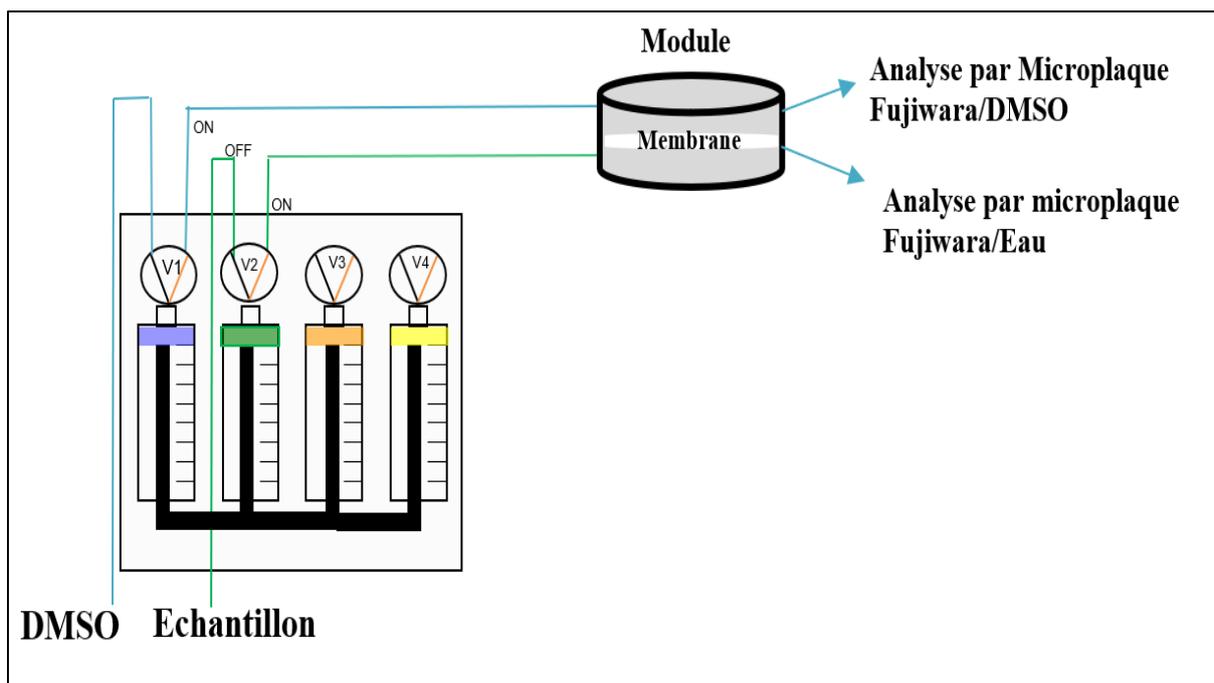


Figure 53. Schéma descriptif des expériences effectuées avec les modules en utilisant la membrane.

Plusieurs paramètres peuvent influencer l'efficacité de l'extraction, comme le volume interne du module d'extraction, la géométrie des canaux (rectangulaire ou circulaire), la membrane (PTFE ou silicone), la méthode de poussée des solutions dans les deux parties (continue ou stop flow, avec le flux de DMSO stoppé dans le module pendant la poussée du flux de l'échantillon), la quantité injectée (volume), les débits utilisés ainsi que le rapport des débits entre les phases donneur et accepteur. Pour cela, les conditions testées et les résultats obtenus sont présentés dans les deux parties suivantes selon le module testé (PMMA ou imprimé en 3D).

Les expériences ont tout d'abord été effectuées dans cette partie avec des échantillons de chloroforme afin de fixer les conditions d'extraction, puis on les a appliquées pour tous les autres composés.

III.3.2.1.1. Module en PMMA

Tout d'abord, les expériences avec le module en PMMA ont été effectuées avec la membrane PTFE. Les paramètres testés avec ce module et cette membrane ont été la

méthode de poussée (en continu ou stop flow), les débits et les rapports de débits entre les deux solutions.

En utilisant la méthode en continu, différents débits (similaires dans les deux parties du module) entre 0,1 et 0,5 mL.min⁻¹ ont été testés avec un volume total injecté de 3 mL. Des portions de 200 µL de chaque solution (phase aqueuse et phase DMSO) étaient récupérées et analysées en microplaque pour évaluer la quantité de chloroforme passée dans la phase DMSO.

Les expériences ont débuté avec une solution standard de chloroforme suffisamment concentrée (20 mg.L⁻¹) pour bien mesurer la fluorescence de la phase aqueuse et de la phase DMSO par le protocole microplaque. Un standard à 20 mg.L⁻¹ dans le DMSO a également été préparé (de concentration identique au standard correspondant à l'échantillon en phase aqueuse) pour servir de valeur référence et permettre de calculer un facteur de préconcentration, correspondant au rapport entre l'intensité de fluorescence mesurée dans les portions de DMSO récupérée et l'intensité de fluorescence obtenue pour le standard à 20 mg.L⁻¹ dans le DMSO. La valeur maximale de la fluorescence des différentes portions de DMSO (portions de 200 µL, avec un volume total de 3 mL) nous a permis de calculer le facteur de préconcentration maximal en fonction du débit des solutions dans le module (Figure 54).

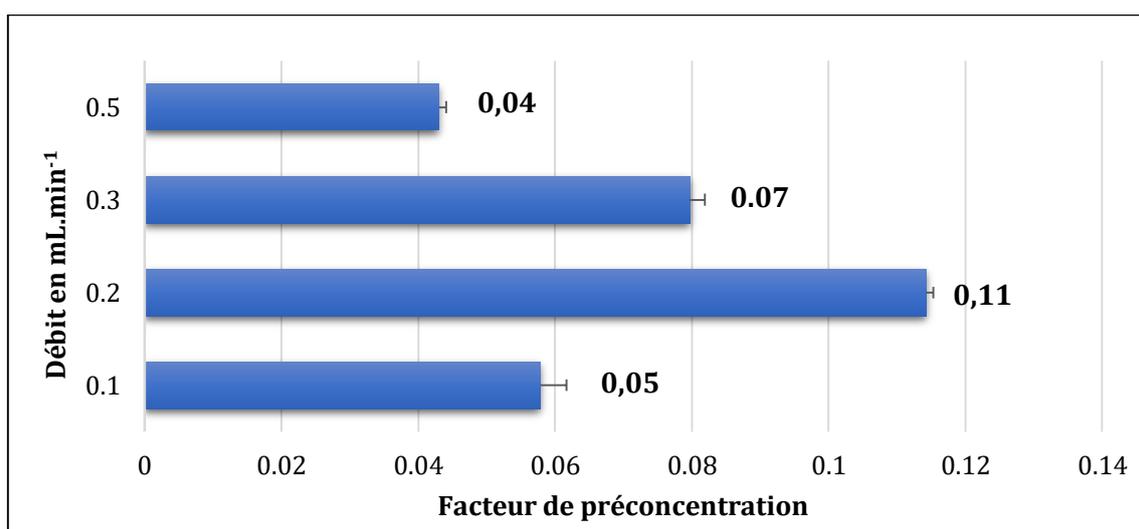


Figure 54. Facteur de préconcentration en fonction du débit des flux donneurs et accepteurs (de 0,1 à 0,5 mL.min⁻¹). Expérience : extraction via la membrane PTFE avec le module PMMA d'une solution CHCl₃ de 20 mg.L⁻¹.

Ces résultats montrent que le débit a une forte influence sur les facteurs de préconcentration (valeur maximale avec un débit de $0,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$). Cependant le facteur de préconcentration du chloroforme dans le DMSO avec la membrane PTFE n'a pas dépassé 0,11 ce qui restait faible. Nous avons vérifié que la quantité passée dans le DMSO correspondait bien à la quantité perdue dans la phase aqueuse, ce qui était bien le cas.

Des expériences dans des conditions similaires (débit, rapport débit, type de membrane) ont ensuite été effectuées, mais en augmentant le nombre de couches de membrane pour favoriser le contact entre les deux phases. Les résultats ont montré une amélioration de l'extraction de chloroforme jusqu'à 3 couches de membrane en PTFE, avec un facteur de préconcentration maximal limité tout de même à 0,28 à un même débit de $0,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (Figure 55). L'augmentation du nombre de couches de membrane (plus que 3) n'a pas été possible, des fuites étant alors constatées.

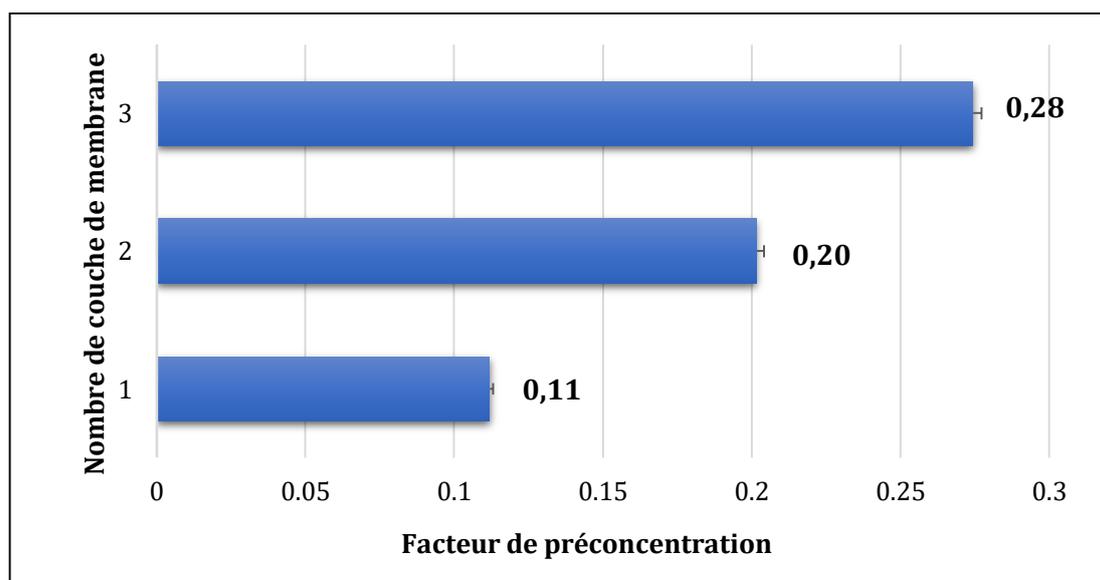


Figure 55. Facteur de préconcentration en fonction du nombre de couches de membrane en PTFE. Expérience : extraction via la membrane PTFE avec le module PMMA d'une solution CHCl_3 de $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ à débit $0,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (identique pour les deux flux).

Différentes expériences ont été effectuées pour essayer d'améliorer ces résultats pour préconcentrer les THM dans la phase DMSO : variation du débit entre la phase aqueuse et la phase DMSO, méthode stop flow pour le DMSO pour augmenter le facteur de préconcentration, passage à la membrane silicone. Un facteur maximal de 0,30 n'a pas pu être dépassé avec ce module, similaire entre la membrane silicone (une seule couche car plus épaisse) et les 3 membranes en PTFE. Nous avons donc décidé de tester un module

d'extraction avec un volume interne plus important pour augmenter ces facteurs de préconcentration.

III.3.2.1.2. Module imprimé en 3D

Pour le module circulaire imprimé en 3D, la membrane en PTFE n'a pas pu être testée à cause de problèmes de fuite des solutions, même après l'ajout de plusieurs couches de membrane en PTFE. La membrane en silicone, plus épaisse, nous a cependant permis d'éviter les fuites et d'effectuer des tests.

Des premières expériences ont été effectuées pour comparer la méthode avec poussée en continu et celle en mode stop-flow (poussée du chloroforme avec phase DMSO fixe dans le module). Le volume interne du module étant de 2 mL (c'est le volume mort du module), des seringues de volumes importants (5 mL ou 10 mL) ont été utilisées pour les tests. La méthode stop-flow ayant donné des résultats toujours meilleurs que la méthode en continu, nous avons décidé d'optimiser cette méthode, en faisant varier notamment le volume de chloroforme poussé (le volume de DMSO était celui contenu dans le module, donc fixe à 2 mL) et les débits des différentes solutions (chloroforme et DMSO poussés en dehors du module après extraction). Le protocole suivant a été utilisé pour les tests, programmé en 3 étapes sur le logiciel de contrôle du module multi-seringues (Tableau 37) :

Action du module via Multi-seringue	Remarques
Étape 1 : 8 mL Eau + 8 mL DMSO à débit 0,5 mL.min ⁻¹ (en continu).	Lavage du module et vérification de l'absence de contamination dans le DMSO
Étape 2 : y mL d'un échantillon de CHCl ₃ à 1 mg.L ⁻¹ à débit x mL.min ⁻¹	Extraction du CHCl ₃ dans le DMSO + récupération de la phase aqueuse sortante pour vérification de la quantité extraite (DMSO en mode stop-flow)
Étape 3 : 2 mL DMSO à débit 0,5 mL.min ⁻¹	Récupération du DMSO enrichi + calcul du taux d'enrichissement maximal

Tableau 38. Protocole en mode stop-flow utilisé pour l'extraction du CHCl₃ via la membrane silicone avec le module imprimé en 3D, programmé avec le logiciel Autoanalysis.

Les différentes phases sortantes du module ont été récupérées manuellement (tous les 200 μL environ) et analysées par les protocoles microplaques pour la quantification du chloroforme. Trois débits ont été testés (0,25 ; 0,5 et 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$), seuls les résultats aux plus faibles débits ont pu être conservés (fuite au niveau du module aux débits plus élevés, dues probablement à une pression trop forte dans les canaux en spirale au contact de la membrane). Les résultats du facteur de préconcentration pour une solution de CHCl_3 à 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en fonction du volume de l'échantillon pompé à l'étape 2 à débit 0,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ sont présentés dans la Figure 56 (les valeurs à 0,25 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ étaient très proches).

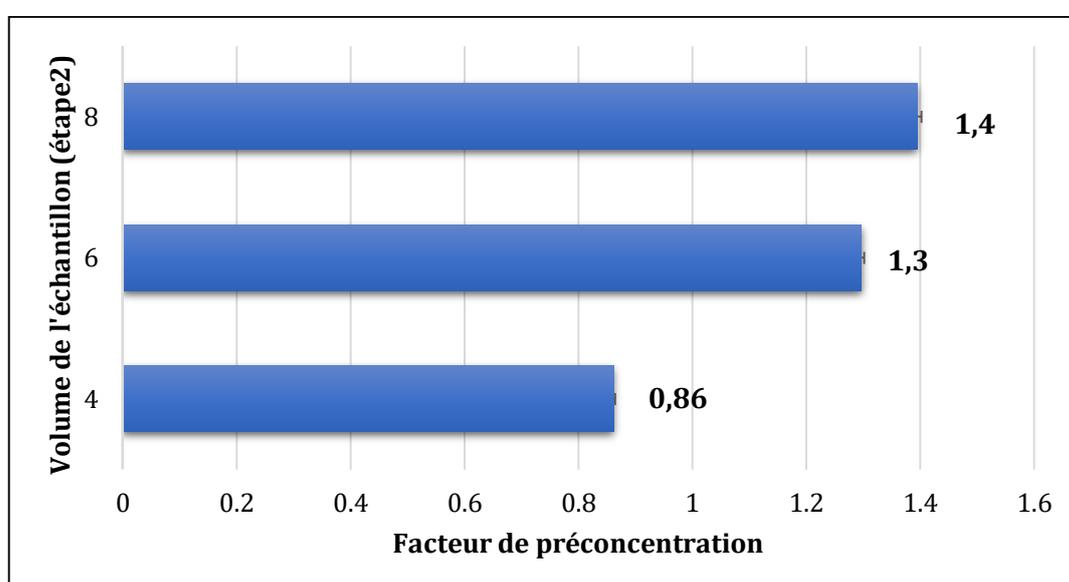


Figure 56. Facteur de préconcentration d'un échantillon de CHCl_3 (1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en fonction du volume de l'échantillon pompé à l'étape 2 à débit 0,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Comme attendu, la quantité de chloroforme extraite dans le DMSO augmente avec le volume de chloroforme pompé dans le module (effet de préconcentration). Des volumes plus importants auraient pu être testés mais cela n'a pas été effectué afin de limiter les temps d'analyse (temps de poussée du chloroforme d'environ 15 min avec 8 mL de solution poussée à 0,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$).

Des facteurs de préconcentration supérieurs à 1 ont pu être obtenus, mais cependant plus faibles que les facteurs de préconcentration théoriques attendus si tout le chloroforme passait dans le DMSO (volume de DMSO fixe à 2 mL, volume de chloroforme jusqu'à 8 mL). Ceci s'explique en partie par les concentrations résiduelles mesurées en sortie dans la phase aqueuse (environ 25% de la quantité initiale de chloroforme, donc non passée

dans la phase organique), et également par une absorption du chloroforme sur la membrane, des quantités importantes de chloroforme étant mesurées dans les portions successives de DMSO lors de la phase de lavage du cycle suivant (ce qui explique le volume important de 8 mL utilisé lors de cette phase de lavage).

A la suite de ces tests d'optimisation sur le chloroforme, des expériences ont été réalisées avec les autres composés de trihalométhanes ainsi que d'autres composés potentiellement réactifs au protocole de Fujiwara (notamment les HAA, comme l'acide tribromoacétique et trichloroacétique). Le bromoforme était extrait dans des proportions similaires au chloroforme, mais les HAA ont également montré un facteur de préconcentration non négligeable (autour de 0,55), bien que plus faible que celui observé pour le chloroforme.

Par suite, notre hypothèse basée sur le fait que les HAA resteraient plus en phase aqueuse que les THM n'a donc pas pu être validée, et cette méthode d'extraction n'a donc pas été poursuivie.

III.3.2.2. Extraction sur phase solide

A la suite des résultats insuffisants obtenus lors des expériences avec les modules avec membrane, des expériences complémentaires pour l'extraction des THMs sans interférences des HAAs ont été lancées. Tout d'abord, des tests primaires ont été effectués sur deux grands types de phase disponibles en extraction sur phase solide (SPE) : Oasis HLB (polymère avec balance hydrophile-lipophile) et phase inverse de type silice greffée C18. Les premiers résultats ont montré une extraction plus efficace des THMs sur la phase de type C18, les expériences d'optimisation ont donc été effectuées sur ce type de cartouche.

Le but étant d'appliquer la méthode Fujiwara développée dans le DMSO, l'élution des cartouches SPE a été effectuée avec ce solvant. Des micro-pompes solénoïdes ont été utilisées pour pousser les solutions à travers la colonne. Le schéma du montage est présenté dans la Figure 57 et dans la photographie dans la Figure 58. Une pompe d'eau a été utilisée pour l'étape de lavage de la colonne et des tuyaux, ainsi que pour l'étape de conditionnement avant la percolation de l'échantillon. La pompe d'air a servi à pousser

les solutions à travers la colonne. La séquence des opérations du système est présentée dans le tableau 38.

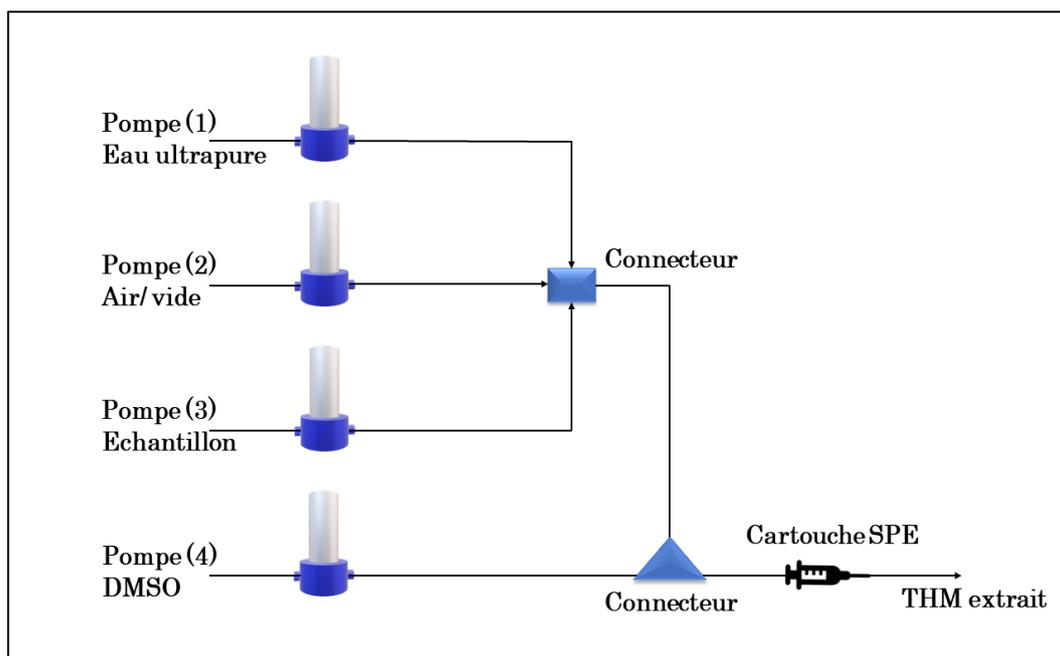


Figure 57. Schéma représentatif du montage utilisé pour l'extraction des THMs via la cartouche SPE automatisé avec le logiciel Autoanalysis. Les THMs extraits sont analysés dans cette partie manuellement avec la microplaque.

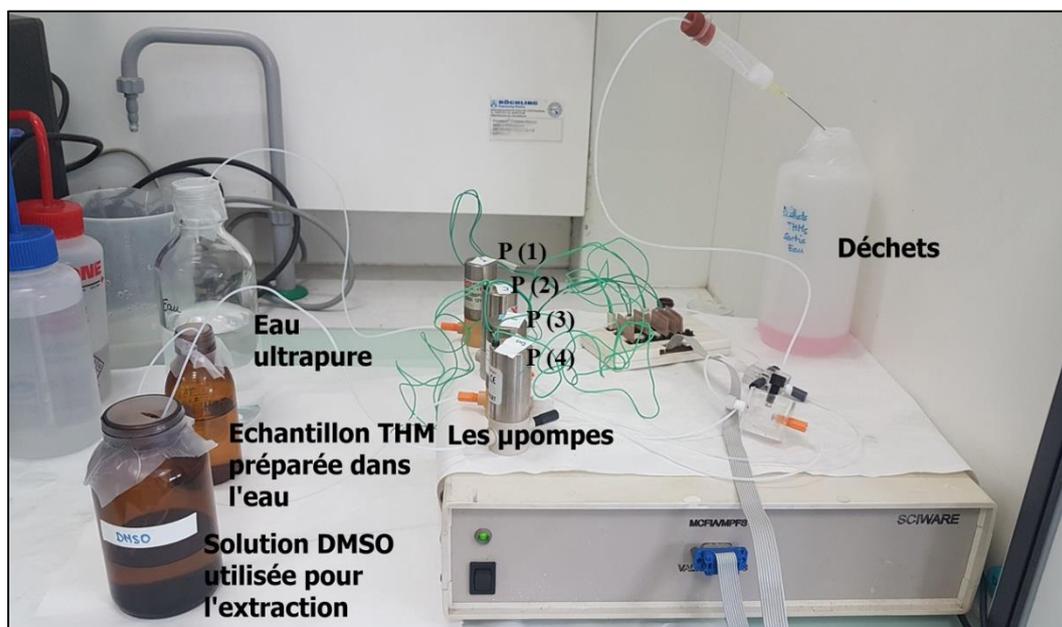


Figure 58. Photographie du montage représentant la partie de l'extraction de THMs via la cartouche (SPE).

Etape	Pompe	Commentaire
1	Pompe (1)	Conditionnement, en poussant un volume d'eau de 5 mL à débit 10 mL.min ⁻¹
2	Pompe (3)	Chargement de l'échantillon, en poussant un volume (X mL) de l'échantillon préparé dans l'eau
3	Pompe (2)	Poussée à travers la colonne
4	Pompe (1)	Lavage, en poussant un volume de 5 mL à débit 10 mL.min ⁻¹
5	Pompe (2)	Poussée à travers la colonne
6	Pompe (4)	Elution avec le DMSO, en poussant un volume de 5 mL à débit 2 mL.min ⁻¹

Tableau 39. Etapes de la méthode de l'extraction par SPE.

Les solutions d'échantillon percolées ainsi que les solutions d'élution de DMSO ont été récupérées par fraction de 150 µL, et leurs réponses par le protocole Fujiwara en microplaque adapté ont été mesurées afin de quantifier le chloroforme extrait et élué. Les mesures sur les différentes fractions de DMSO éluées ont montré que les THMs sont extraits principalement dans la première fraction, puis de moins en moins dans les 2 fractions suivantes jusqu'à avoir des mesures équivalentes au blanc dans les dernières fractions (Figure 59). Nous avons également vérifié et confirmé que l'étape de lavage à l'eau (étape 4) n'entraînait pas de pertes de THM lors du protocole.

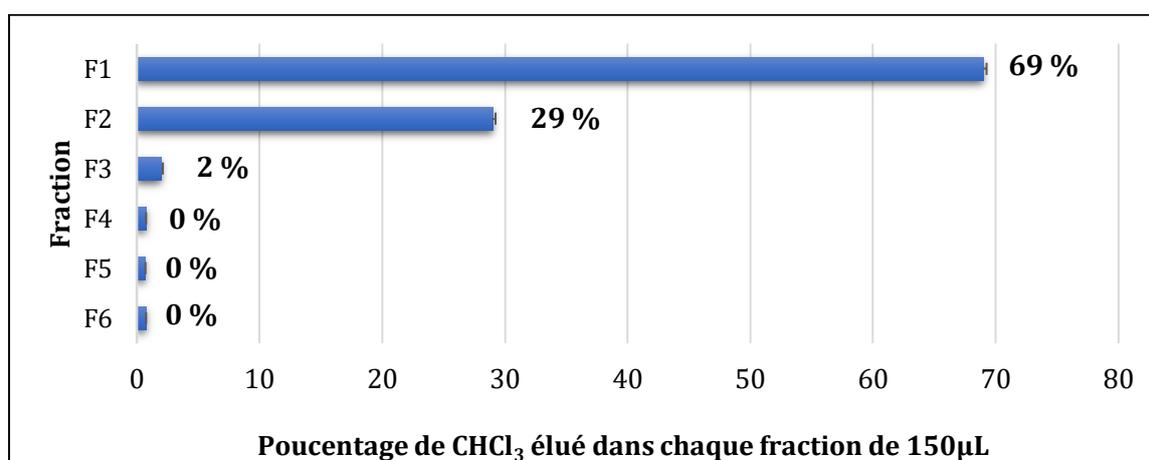


Figure 59. Pourcentage de chloroforme élué dans les différentes fractions récupérées (150 µL par fraction). Expérience : extraction volume 10 mL de CHCl₃ 1 mg.L⁻¹, élution avec 1 mL de DMSO au total. La somme des différentes fractions représente 100 % du chloroforme élué.

Afin de fixer les conditions optimales d'extraction, différentes conditions expérimentales ont été testées (Figure 60) : 4 volumes d'échantillon différents (5 mL, 10 mL, 20 mL et 40 mL d'une solution de chloroforme à 1 mg.L⁻¹) et deux débits différents de percolation de l'échantillon (5 et 10 mL.min⁻¹), en notant que le débit de l'élution est fixe à 2 mL.min⁻¹. Un facteur de préconcentration égal à 1 correspond à une concentration mesurée de 1 mg.L⁻¹ dans la fraction de DMSO élué.

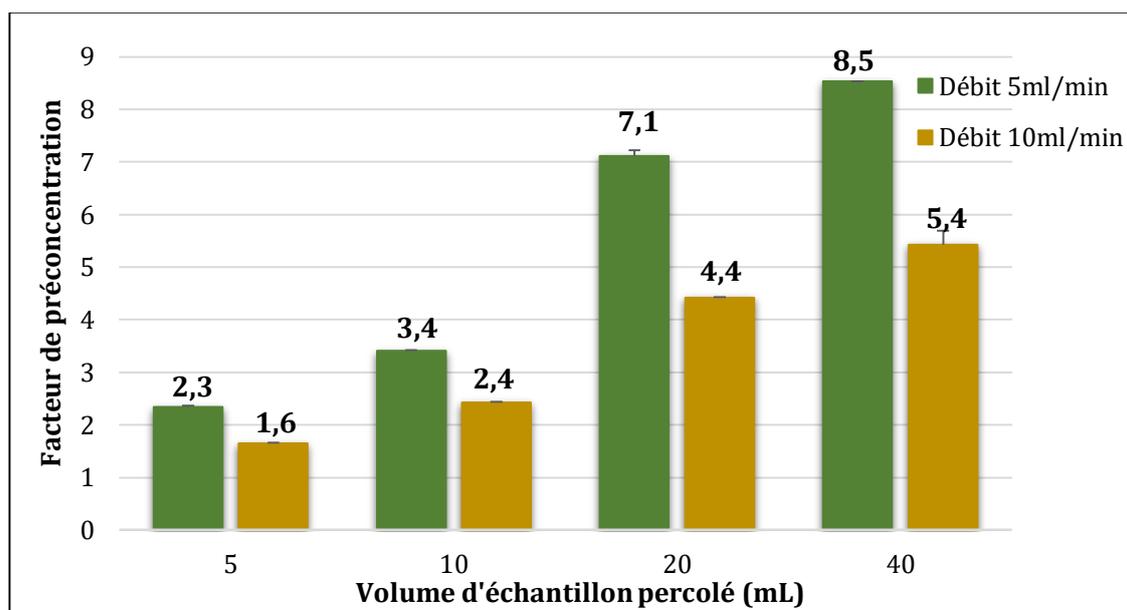


Figure 60. Comparaison du facteur de préconcentration en fonction du volume d'échantillon chargé sur la cartouche pour deux débits de percolation différents : D1 (vert) à 5 mL.min⁻¹ et D2 (jaune) à 10 mL.min⁻¹.

En se basant sur les résultats présentés dans la Figure 60, un débit pour la phase de percolation de 5 mL.min⁻¹ a donc été choisi afin d'optimiser la préconcentration du DMSO en THM. Des débits plus faibles ont été testés, avec peu d'améliorations notables mais des temps d'analyse plus longs, ce débit de 5 mL.min⁻¹ a donc été conservé. Un volume d'échantillon percolé (volume de chargement) de 20 mL a été choisi pour limiter le temps d'analyse, ce volume peut être augmenté si la limite de détection doit être améliorée.

Des expériences ont ensuite été effectuées pour tester dans les mêmes conditions les autres composés potentiellement réactifs à même concentration (1 mg.L⁻¹) : le bromoforme (CHCl₃), le bromodichlorométhane (CHBrCl₂), le dibromochlorométhane (CHBr₂Cl), l'acide trichloroacétique (CCl₃COOH) et l'acide tribromoacétique (CBr₃COOH), le tétrachloroéthylène (C₂Cl₄) et le trichloréthylène (C₂HCl₃).

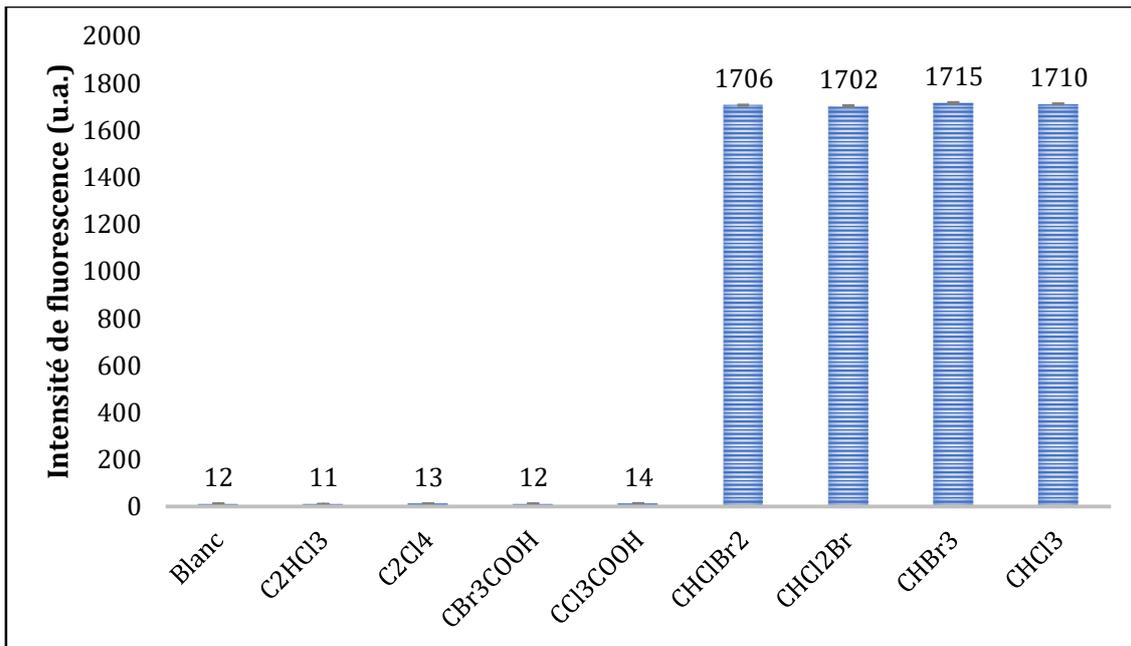


Figure 61. Comparaison de la réponse des THMs et HAAs par application du protocole SPE et mesure en microplaques de la fluorescence pour les fractions éluées (fraction de 150 μ L, l'intensité maximale est indiquée sur le graphique). Expérience : volume d'échantillon de 20 mL, concentration 1 mg.L^{-1} , et débit 5 mL.min^{-1} (étape 2 Tableau 37).

Ces résultats (Figure 61) ont montré que tous les THMs donnent des réponses similaires après préconcentration et dérivation par le protocole Fujiwara. Les HAAs donnent des réponses égales au blanc, car ces composés ne sont pas retenus sur la cartouche de SPE utilisée, ils ne présenteront donc pas d'interférences pour la mesure des THMs par ce protocole, tout comme le tétrachloroéthylène et le trichloroéthylène.

Des courbes d'étalonnage ont été construites suite à l'application de la méthode d'extraction de différentes concentrations d'échantillons de THMs. Des résultats similaires ont été obtenus pour les quatre composés de THMs. La Figure 62 présente la courbe d'étalonnage avec le chloroforme, avec un excellent coefficient de corrélation de 0,997. La limite de détection a ensuite été calculée à 4,28 $\mu\text{g.L}^{-1}$, ce qui est bien très inférieur à la limite de qualité dans les eaux de 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Une limite de quantification inférieure à 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (objectif fixé par l' Arrêté du 19 octobre 2017 relatif aux méthodes d'analyse utilisées dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux [190]) pourrait être atteinte facilement en augmentant le volume d'échantillon.

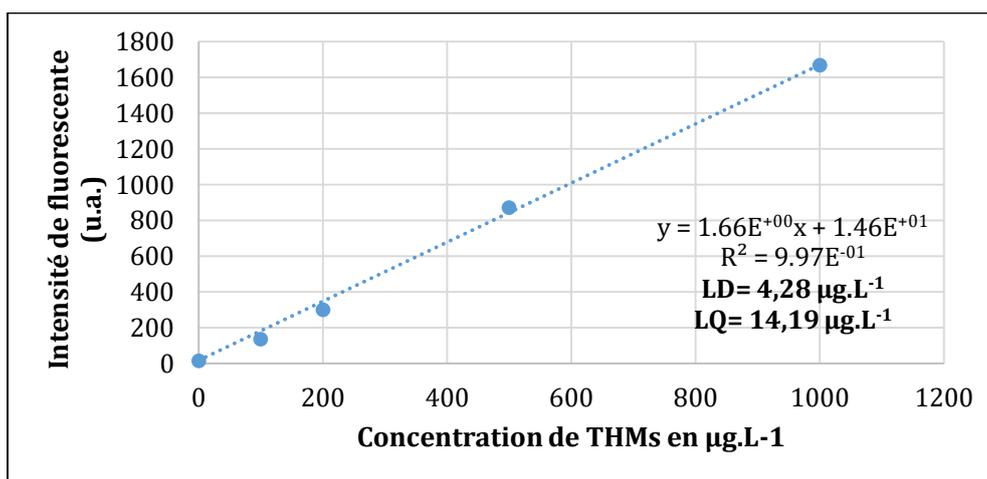


Figure 62. Courbe d'étalonnage (la réponse fluorescente en fonction de la concentration en $\mu\text{g.L}^{-1}$). Expérience : extraction du CHCl_3 entre 100 et 1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (V 20 mL, D 0,5 mL.min^{-1}).

Nous avons ainsi fait un test en augmentant le volume d'échantillon à 60 mL et 125 mL. Le résumé des résultats obtenus pour les différents volumes est présenté dans le Tableau 39. Les performances analytiques de la méthode peuvent donc être facilement adaptées en fonction du temps d'analyse et donc du débit d'analyse requis pour la méthode analytique.

Paramètres	Volume de chargement		
	20 mL	60 mL	125 mL
Temps d'analyse (min)	16,5	24,5	37,5
Limite de détection ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	4,28	1,56	0,71
Limite de quantification ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	14,19	4,34	2,3

Tableau 40. Caractéristiques analytiques de la méthode de détection de THMs via l'extraction avec une cartouche SPE et l'application de la nouvelle méthode de Fujiwara/DMSO développée en fonction du volume de chargement à l'étape 2 de la méthode présentée dans le tableau 5.

Cette méthode simple à température ambiante donne donc de meilleures performances analytiques que la méthode basée sur la réaction avec la nicotinamide en chauffant à 98°C ($LD = 2,5 \mu\text{g.L}^{-1}$, avec un temps d'analyse total estimé à 30 minutes) [131].

Enfin, les deux principales étapes de l'analyse des THMs ont donc été mises au point : l'extraction/préconcentration des THMs dans le DMSO, et la réaction de dérivation de type Fujiwara avec les THMs dans le DMSO en présence de pyridine et de soude.

A l'heure actuelle nous n'avons pas encore automatisé cette réaction de dérivation, l'utilisation de la pyridine nécessitant de faire le système entièrement sous une hotte aspirante. Des expériences sont en cours d'étude afin de réaliser l'automatisation de cette réaction de Fujiwara en ajoutant des micro-pompes afin d'injecter les réactifs de la réaction (pyridine et soude) ainsi qu'un réacteur pour mélanger les différents fluides.

L'optimisation des expériences sera divisée en quatre parties essentielles :

- (1) Choisir le modèle de détecteur par fluorescence de manière à ne pas générer de pression sur le système, afin de pouvoir utiliser les micro-pompes.
- (2) Choisir un réacteur convenable pour la réalisation de la réaction Fujiwara.
- (3) Optimiser tous les paramètres (débit des réactifs...) pour maintenir de bonnes performances analytiques.
- (4) Analyser des échantillons réels et comparer les résultats avec ceux obtenus par une méthode GC/ECD traditionnelle.

Une illustration générale du nouveau système à développer pour analyser les trihalométhanes dans les échantillons réels est présentée dans la Figure 25 suivante.

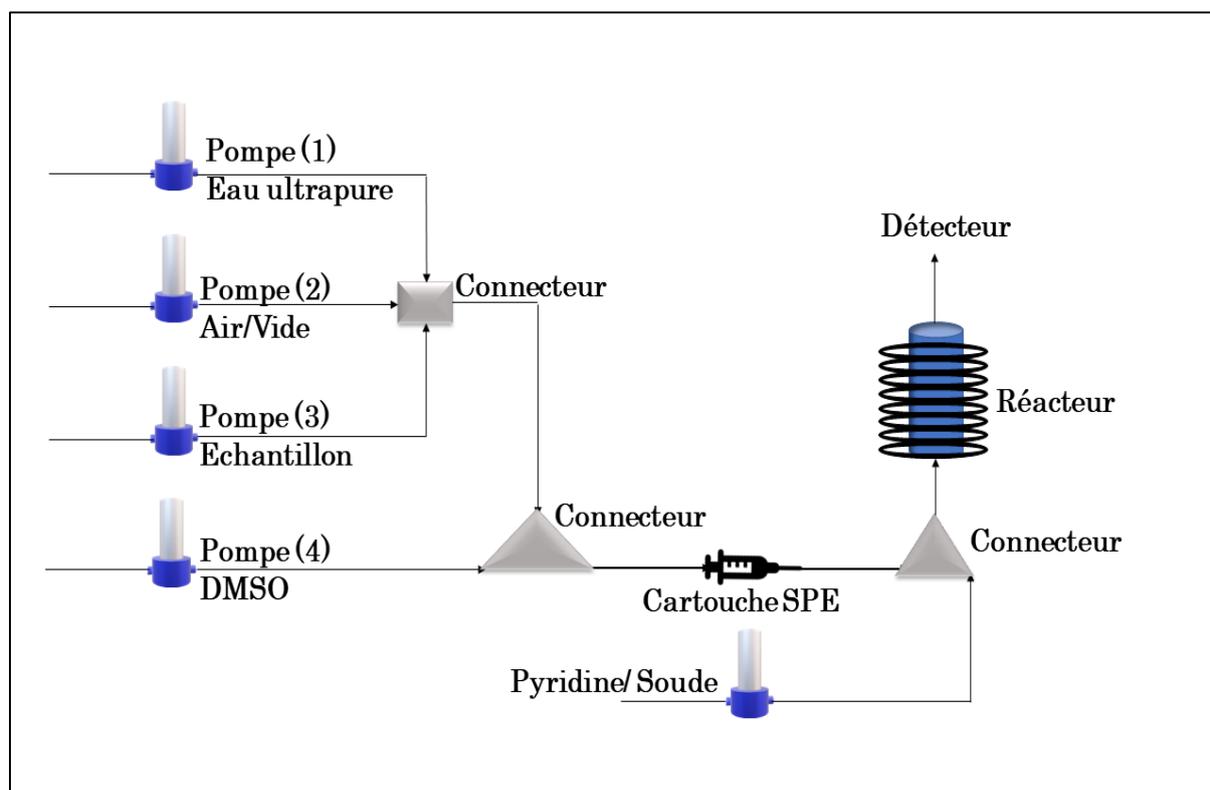


Figure 63. Schéma descriptif du système automatisé à développer pour analyser les THMs dans les eaux.

III.4. Conclusion du chapitre

Ce chapitre a présenté les optimisations effectuées pour développer un nouveau système d'analyse automatisé pour les trihalométhanes dans les eaux. L'idée générale du système est d'extraire les trihalométhanes présents dans l'eau vers un solvant organique (DMSO), puis de les analyser par une réaction de Fujiwara adaptée au DMSO. La réaction de Fujiwara développée permet d'analyser les THM sans besoin de chauffer (réaction à température ambiante) avec de bonnes performances analytiques. Malgré nos nombreuses tentatives, nous n'avons cependant pas pu remplacer la pyridine par d'autres dérivés moins odorants et moins toxiques. Plusieurs méthodes d'extraction et de préconcentration des trihalométhanes de l'eau vers le DMSO ont été testées, seule la méthode par application d'un protocole d'extraction sur phase solide a été efficace, sans interférences avec les acides haloacétiques. Le protocole global permet d'atteindre des limites de quantification suffisamment faibles pour être appliqué à des échantillons réels en respectant les critères de qualité pour le contrôle sanitaire des eaux. L'automatisation complète du protocole est en cours, l'application de la réaction de Fujiwara ayant été manuelle jusqu'à maintenant. Ces derniers développements permettront de finaliser notre système automatisé, rapide, sensible et peu cher pour analyser les trihalométhanes totaux dans les eaux. L'application à un système de terrain/en ligne sera cependant limitée par l'utilisation de la pyridine, d'autres dérivés moins problématiques devront être développés pour finaliser cette application.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Les chloramines inorganiques et les trihalométhanes sont deux des sous-produits de désinfection les plus fréquemment rencontrés dans les eaux chlorées. La détermination des chloramines inorganiques pose un grand défi, car la plupart des méthodes existantes pour leur quantification ne permet pas -jusqu'à ce jour- de les analyser avec une bonne sélectivité et une bonne sensibilité sans interférences des chloramines organiques. En outre, la détermination des quatre trihalométhanes est très coûteuse du fait de l'utilisation de techniques de laboratoire complexes comme la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur spécifique, et l'utilisation de méthodes alternatives moins coûteuses basées sur des mesures spectrofluorimétriques restait limitée avant les travaux menés dans cette thèse.

L'objectif de ces travaux de recherche était donc le développement de deux systèmes d'analyse séparés (l'un pour les chloramines inorganiques et l'autre pour les trihalométhanes), simples, sélectifs, fiables, sensibles et à bas coût. Pour répondre à ces critères, le cahier des charges imposé était :

- 1) l'utilisation de techniques d'analyse en flux permettant de concevoir des systèmes d'analyses automatisés pour une analyse sur site.
- 2) l'utilisation d'une détection spectrale (fluorimétrique, ou spectrophotométrique) permettant une limitation des coûts d'analyse et de conception.

Pour la réalisation du premier système servant à analyser les chloramines inorganiques dans les eaux, l'idée qui a été retenue est de coupler une séparation chromatographique des chloramines à une dérivation post-colonne. Pour cela, la chromatographie basse pression multi-seringue utilisant une colonne monolithique a été utilisée pour la première fois dans cet objectif. Cette séparation est suivie par une réaction de dérivation avec l'ABTS capable de réagir avec les trois chloramines inorganiques pour former un produit stable, coloré, quantifiable par spectrophotométrie. Une autre réaction post-colonne basée sur la réaction des chloramines avec un réactif OPA/thiol a également été testée et validée. L'optimisation de l'ensemble de ces étapes a permis d'obtenir de très bonnes sensibilités (limites de détection autour de $10 \mu\text{g Cl}_2\cdot\text{L}^{-1}$) ainsi qu'une parfaite sélectivité vis-à-vis des interférences potentielles d'autres composés chlorés comme les

chloramines organiques. L'application à des échantillons réels de piscine nous a permis de démontrer cette sélectivité par rapport à la méthode de dosage titrimétrique utilisant le DPD.

Au-delà de la mise au point de l'analyse spécifique des chloramines inorganiques, de nouvelles méthodes de détermination directe des espèces réactives chlorées et bromées ont été proposées par utilisation de l'ABTS en adaptant le milieu réactionnel, permettant ainsi de différencier notamment les composés chlorés des composés bromés, ou encore le brome des bromamines.

Le deuxième objectif consistait à développer un système d'analyse des trihalométhanes dans les eaux. Le procédé proposé est basé sur la réaction de Fujiwara mais présente désormais l'avantage d'être réalisé à température ambiante et en milieu organique. Le protocole d'analyse repose sur l'extraction de ces composés de l'eau vers un solvant organique (DMSO), milieu dans lequel est réalisé la réaction de dérivation avec la pyridine. Cette réaction a été optimisée et développée à température ambiante, et la détection du produit fluorescent formé avec la pyridine est réalisée avec un détecteur spectrofluorimétrique. L'optimisation de ces différentes étapes a permis d'obtenir un protocole d'analyse sélectif (pas d'interférences des acides haloacétiques, ni du tri- et tétrachloroéthylène) avec d'excellentes limites de détection et de quantification (respectivement inférieures à 1 et 2,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, fonction également du volume d'échantillon). Un système d'analyse automatisé des trihalométhanes utilisant les développements apportés dans ce chapitre est en cours de finalisation.

Les travaux de recherche menés permettent d'envisager plusieurs perspectives de développement et d'applications, à la fois en ce qui concerne l'analyse des chloramines et des bromamines inorganiques, et également, en ce qui concerne le système d'analyse des trihalométhanes dans les eaux :

- 1) Continuer l'étude de la différenciation entre le brome libre et les bromamines en utilisant le réactif ABTS avec le tampon MES.
- 2) Etudier la possibilité de la réalisation des analyses avec les eaux de refroidissement et les eaux de mer avec le système (MSC) développé.

- 3) Etudier la possibilité d'implanter la phase C18 utilisée lors de l'étape SPE dans un module imprimé en 3D, ce qui faciliterait la connexion entre les différents éléments.
- 4) Essayer de remplacer la pyridine par d'autres dérivés de la pyridine commerciaux ou à synthétiser
- 5) Terminer l'automatisation du système d'analyse global des THMs (notamment l'étape de réaction de Fujiwara).
- 6) Etendre l'application du système à l'analyse des HAAs, en préconcentrant les HAAs sur une résine ionique puis en les éluant avec du DMSO.

Production Scientifique

Production Scientifique

Publications :

R. Chehab, B. Coulomb, J. L. Boudenne, and F. Robert-Peillard, "Development of an automated system for the analysis of inorganic chloramines in swimming pools via multi-syringe chromatography and photometric detection with ABTS," *Talanta*, vol. 207, 2020

+ deux autres publications en cours de rédaction (premier auteur).

Communications internationales et nationales :

Orales :

R. Chehab, F. Robert-Peillard, B. coulomb and J. L. Boudenne. Multi-syringe chromatography system for the on-line analysis of inorganic chloramines. 14th International conference on Flow analysis, 2-7 December 2018, Bangkok, THAILAND.

R. Chehab, F. Robert-Peillard, B. coulomb and J. L. Boudenne. Automated system for the analysis of inorganic chloramines in swimming pools. 8th International conference on swimming pool and Spa, 18-22 Mars 2019, Marseille, FRANCE.

R. Chehab, F. Robert-Peillard, B. coulomb and J. L. Boudenne. Développement d'un système automatisé pour analyser les chloramines inorganiques dans les eaux. 26^{ème} congrès des doctorants en sciences de l'environnement, 29-30 Avril 2019, Marseille, FRANCE

Flash poster :

R. Chehab, F. Robert-Peillard, B. coulomb and J. L. Boudenne. Development of a simple procedure for trihalomethanes measurement in swimming pool water samples. 8th International conference on swimming pool and Spa, 18-22 March 2019, Marseille, FRANCE

Posters :

R. Chehab, F. Robert-Peillard, B. coulomb and J. L. Boudenne. Development of an automated device for the on-line analysis of chloramines in water. 21st International conference on Flow injection and related techniques, 3-8 september 2017, Saint Petersburg, RUSSIA.

R. Chehab, F. Robert-Peillard, B. coulomb and J. L. Boudenne. Développement d'un système automatisé pour l'analyse des chloramines inorganiques dans les eaux par Multi-syringe chromatographie. 25^{ème} congrès des doctorants en sciences de l'environnement, 17-18 Avril 2019, Marseille, FRANCE.

Références

Références

- [1] World Health organization (WHO), "Guidelines for Drinking-water quality, Fourth edition," *World Heal. Organ. Geneva*, pp. 1–541, 2011.
- [2] R. Desjardins, *Le traitement des eaux: 2ème édition revue et améliorée*. 1999.
- [3] M. J. Br, "Typhoid epidemic at Maidstone," *J. Sanit. Inst.*, vol. 18, pp. 1022–1023, 1897.
- [4] G. A. Boorman, V. Dellarco, J.K. Dunnick, R. E. Chapin, S.Hunter, F. Hauchman, H. Gardner, M. Cox and R. C. Sills, "Drinking Water Disinfection Byproducts: Review and Approach to Toxicity Evaluation," *Environ. Health Perspect.*, vol. 107, no. February, pp. 207–217, 1999.
- [5] C. R. Darnall, "The purification of water anyhdrous chlorine," *J. Am. public Heal. Assoc.*, vol. 11, pp. 783–797, 1910.
- [6] J. C. Morris, "The Acid Ionization Constant of HOCl from 5 to 35°," *J. Phys. Chem.*, vol. 70, no. 12, pp. 3798–3805, 1966.
- [7] R. E. Connick and Y. T. Chia, "The Hydrolysis of Chlorine and its Variation with Temperature," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 81, no. 6, pp. 1280–1284, 1959.
- [8] G. Zimmerman and F. C. Strong, "Equilibria and Spectra of Aqueous Chlorine Solutions," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 79, no. 9, pp. 2063–2066, 1957.
- [9] T. A. Bellar, J. J. Lichtenberg, and R. C. Kroner, "Occurrence of Organohalides in Chlorinated Drinking Waters," *J. / Am. Water Work. Assoc.*, vol. 66, no. 12, pp. 703–706, 1974.
- [10] R. Sadiq and M. J. Rodriguez, "Disinfection by-products (DBPs) in drinking water and predictive models for their occurrence: A review," *Sci. Total Environ.*, vol. 321, no. 1–3, pp. 21–46, 2004.
- [11] T. Manasfi, B. Coulomb, and J. L. Boudenne, "Occurrence, origin, and toxicity of disinfection byproducts in chlorinated swimming pools: An overview," *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 220, no. 3, pp. 591–603, 2017.
- [12] S. D. Richardson, M. J. Plewa, E. D. Wagner, R. Schoeny, and D. M. DeMarini, "Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: A review and roadmap for research," *Mutat. Res. - Rev. Mutat. Res.*, vol. 636, no. 1–3, pp. 178–242, 2007.
- [13] M. Flury and A. Papritz, "Bromide in the Natural Environment: Occurrence and Toxicity," *J.*

- Environ. Qual.*, vol. 22, no. 4, p. 747, 2010.
- [14] B. M. Soulard, F. Bloc, A. Hatterer, L. De Chimie, and M. Appliquebe, "Diagrams of Existence of Chloramines and Bromamines in Aqueous Solution," no. 2300, pp. 2300–2310.
- [15] M. B. Heeb, I. Kristiana, D. Trogolo, J. S. Arey, and U. von Gunten, "Formation and reactivity of inorganic and organic chloramines and bromamines during oxidative water treatment," *Water Res.*, vol. 110, pp. 91–101, 2017.
- [16] I. Weil and J. C. Morris, "Kinetic Studies on the Chloramines.," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 71, no. 3, pp. 1664–1671, 1949.
- [17] M. Doré, *Chimie des oxydants et traitemnt des eaux*, Tec & Doc. 1989.
- [18] R. Floyd, D. G. Sharp, and J. D. Johnson, "Inactivation of Single Poliovirus Particles in Water by Hypobromite Ion, Molecular Bromine, Dibromamine, and Tribromamine," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 12, no. 9, pp. 1031–1035, 1978.
- [19] H. Lei, B. J. Marin, and R. A. Minear, "Bromamine Decomposition Kinetics in Aqueous Solutions," vol. 38, no. 7, pp. 2111–2119, 2004.
- [20] D. J. Fisher, D. T. Burton, L. T. Yonkos, S. D. Turley, and G. P. Ziegler, "The relative acute toxicity of continuous and intermittent exposures of chlorine and bromine to aquatic organisms in the presence and absence of ammonia," *Water Res.*, vol. 33, no. 3, pp. 760–768, 1999.
- [21] G. W. Inman and J. D. Johnso, "Kinetics of Monobromamine Disproportionation-Dibromamine Formation in Aqueous Ammonia Solutions," *Am. Chem. Soc.*, vol. 18, no. 4, pp. 219–224, 1984.
- [22] M. Soulard, F. Bloc, and A. Hatterer, "Domaine d'existence des chloramines et des bromamines Application des eaux," *Rev. des Sci. l'eau*, vol. 3, pp. 113–136, 1984.
- [23] J. Le Roux, H. Gallard, and J. P. Croué, "Formation of NDMA and halogenated DBPs by chloramination of tertiary amines: The influence of bromide ion," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 46, no. 3, pp. 1581–1589, 2012.
- [24] D. Trogolo and J. S. Arey, "Equilibria and Speciation of Chloramines, Bromamines, and Bromochloramines in Water," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 51, no. 1, pp. 128–140, 2017.
- [25] J. Luh and B. J. Mariñas, "Bromide ion effect on N -nitrosodimethylamine formation by monochloramine," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 46, no. 9, pp. 5085–5092, 2012.

- [26] T. Aoki and K. Kawakami, "Continuous flow method for determination of total trihalomethanes in drinking water with membrane-separation," *Water Res.*, vol. 23, no. 6, pp. 739–742, 1989.
- [27] A. M. El-Rehaili and W. J. Weber, "Correlation of humic substance trihalomethane formation potential and adsorption behavior to molecular weight distribution in raw and chemically treated waters," *Water Res.*, vol. 21, no. 5, pp. 573–582, 1987.
- [28] World Health Organisation (WHO), "WHO guidelines for drinking-water quality - Third edition," *WHO Press. Geneva*, vol. 1, p. 564, 2008.
- [29] G. Holzwarth, R. G. Balmer, and L. Soni, "The fate of chlorine and chloramines in cooling towers Henry's law constants for flashoff," *Water Res.*, vol. 18, no. 11, pp. 1421–1427, 1984.
- [30] P. Scharlin, "Evaluation of pKa values for bromodichloromethane, chlorodibromomethane and tribromomethane from kinetic acidities." pp. 480–483, 1987.
- [31] B. Nicholson, B. P. Maguire, and D. B. Bursill, "Henry's Law Constants for the Trihalomethanes: Effects of Water Composition and Temperature," *Environ. Int.*, vol. 18, no. 1, pp. 518–521, 1984.
- [32] P. Scharlin, "Application of acidity function method to the determination of pKa values of trihalomethanes." pp. 207–209, 1986.
- [33] K. Broholm and S. Feenstra, "Laboratory measurement of the aqueous solubility of mixtures of chlorinated solvents," *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 14, no. 1, p. 9, 1995.
- [34] F. Chen, D. L. Freedman, R. W. Falta, and L. C. Murdoch, "Henry's law constants of chlorinated solvents at elevated temperatures," *Chemosphere*, vol. 86, no. 2, pp. 156–165, 2012.
- [35] Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail, "Évaluation Des Risques Sanitaires Liés Aux Piscines Partie I," vol. 1, p. 252, 2012.
- [36] A. Kapelner, A. Krieger, and W. J. Blanford, "Optimal experimental designs for estimating Henry's law constants via the method of phase ratio variation," *J. Chromatogr. A*, vol. 1468, pp. 183–191, 2016.
- [37] A. agence nationale de sécurité sanitaire alimentation environnement travail, "Évaluation des risques sanitaires liés aux piscines Partie II : bains à remous," 2013.
- [38] T. E. Arbuckle, S. E. Hrudey, S. W. Krasner, J. R. Nuckols, S. D. Richardson, P. Singer, P. Mendola, L. Dodds, C. Weisel, D. L. Ashley, K. L. Froese, R. A. Pegram, I. R. Schlutz, J. Reif, A. M. Bachand,

- F. M. Benoit, M. Lynberg, C. Poole and K. Waller.*, "Assessing exposure in epidemiologic studies to disinfection by-products in drinking water: Report from an international workshop," *Environ. Health Perspect.*, vol. 110, no. SUPPL. 1, pp. 53–60, 2002.
- [39] M. Hery, G. Hecht, J. M. Gerber, J. C. Gender, G. Hubert, and J. Rebuffaud, "Exposure to chloramines in the atmosphere of indoor swimming pools," *Ann. Occup. Hyg.*, vol. 39, no. 4, pp. 427–439, 1995.
- [40] B. Nemery, P. H. M. Hoet, and D. Nowak, "Indoor swimming pools, water chlorination and respiratory health," *Eur. Respir. J.*, vol. 19, no. 5, pp. 790–793, 2002.
- [41] J. Parrat, G. Donzé, C. Iseli, D. Perret, C. Tomicic, and O. Schenk, "Assessment of occupational and public exposure to trichloramine in swiss indoor swimming pools: A proposal for an occupational exposure limit," *Ann. Occup. Hyg.*, vol. 56, no. 3, pp. 264–277, 2012.
- [42] J. L. Larson, *M. V. Templin, D. C. Wolf, K. C. Jamison, J. R. Leininger, S. Méry, K. T. Morgan, B. A. Wong, R. B. Conolly and B. E. Butterworth*, "A 90-day chloroform inhalation study in female and male B6C3F1 mice: Implications for cancer risk assessment," *Fundam. Appl. Toxicol.*, vol. 30, no. 1, pp. 118–137, 1996.
- [43] A. B. Lindstrom, J. D. Pleil, and D. C. Berkoff, "Alveolar breath sampling and analysis to assess trihalomethane exposures during competitive swimming training," *Environ. Health Perspect.*, vol. 105, no. 6, pp. 636–642, 1997.
- [44] J. L. Larson, D. C. Wolf, and B. E. Butterworth, "Induced cytotoxicity and cell proliferation in the hepatocarcinogenicity of chloroform in Female B6C3F1 Mice: Comparison of Administration by Gavage in corn oil vs libitum in drinking water," *Fundam. Appl. Toxicol.*, vol. 22, pp. 90–102, 1994.
- [45] I. Chu, D. C. Villeneuve, V. E. Secours, G. C. Becking, and V. E. Valli, "Trihalomethanes: II Reversibility of Toxicological Changes Produced by Chloroform, Bromodichloromethane, Chlorodibromomethane and Bromoform in Rats," *J. Environ. Sci. Heal. Part B*, vol. 17, no. 3, pp. 225–240, 1982.
- [46] G. Aggazzotti, G. Fantuzzi, P. L. Tartoni, and G. Predieri, "Plasma chloroform concentrations in swimmers using indoor swimming pools," *Arch. Environ. Health*, vol. 45, no. 3, pp. 175–179, 1990.
- [47] G. Agcauotti, C. Fantuui, E. Righi, P. Rtoni, T. E. Casslnadri, and C. Predieri, "Chloroform in alveolar air of individuals attending indoor swimming pools," *Arch. Environ. Health*, vol. 48, no. 4, pp. 250–254, 1993.

- [48] C. M. Villanueva, K. P. Cantor, J. O. Grimalt, N. Malats, D. Silverman, A. Tradon, R. GARCIA-Closas, C. Serra, A. Carrato, G. Castano Vinyals, R. Marcos, N. Rothman, F. X. Real, M. Dosemeci and M. Kogevinas, "Bladder cancer and exposure to water disinfection by-products through ingestion, bathing, showering, and swimming in pools," *Am. J. Epidemiol.*, vol. 165, no. 2, pp. 148–156, 2007.
- [49] M. Selbes, W. Beita-Sandí, D. Kim, and T. Karanfil, "The role of chloramine species in NDMA formation," *Water Res.*, vol. 140, pp. 100–109, 2018.
- [50] I. M. SCHREIBER and W. A. Mitch, "Influence of the Order of reagent addition on NDMA during chloramination," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 39, no. 2, pp. 3811–3818, 2005.
- [51] W. A. Mitch and D. L. Sedlak, "Formation of N-nitrosodimethylamine (NDMA) from dimethylamine during chlorination," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 36, no. 4, pp. 588–595, 2002.
- [52] M. E. Huang, S. Huang, and D. L. McCurry, "Re-Examining the Role of Dichloramine in High-Yield N -Nitrosodimethylamine Formation from N, N -Dimethyl- α -arylamines," *Environ. Sci. Technol. Lett.*, vol. 5, no. 3, pp. 154–159, 2018.
- [53] Z. Chen, L. Yang, X. Zhai, S. Zhao, A. Li, and J. Shen, "N-nitrosamine formation during chlorination/chloramination of bromide-containing water," *Water Sci. Technol. Water Supply*, vol. 10, no. 3, pp. 462–471, 2010.
- [54] OMS, *Directives De Qualité Pour L ' Eau De Boisson*. 2017.
- [55] World Health Organisation (WHO), "World Health Organization (WHO).Guidelines for Safe Recreational Environment, Volume 2 Swimming Pools and Similar Environments," *Geneva*, vol. 2, p. 219, 2006.
- [56] *Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique*. 2007, pp. 1–9.
- [57] *Circulaire DGS/EA4 2008-65 du 22 février 2008 relative aux dispositions réglementaires applicables aux piscines ouvertes au public, à l'utilisation des produits et procédés de traitement de l'eau et notamment à ceux mettant en œuvre des lampes à rayonneme*. 2008.
- [58] *Circulaire DGS/EA4 no 2010-289 du 27 juillet 2010 relative à la prévention des risques infectieux et notamment de la légionellose dans les bains à remous (spas) à usage collectif et recevant du public*. 2010.

- [59] *Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine (JO L 330 du 5.12.1998, p. 32-54).* 1998.
- [60] *Directive (UE) 2015/1787 de la Commission du 6 octobre 2015 modifiant les annexes II et III de la directive 98/83/CE du Conseil relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.* 2015.
- [61] Santé Canada, “Recommandations pour la qualité de l’eau potable au Canada: Les trihalométhanes,” pp. 1–39, 2006.
- [62] Santé Canada, *pour la qualité de l’eau potable au Canada Document technique Le chlore.* 2009.
- [63] USEPA, “National primary drinking water regulations: Current drinking water regulations,” 2009.
- [64] C. Arcanjo, L. Monteiro, and R. Lourenço, *Circular Normativa n°14/DA*, vol. 62. 2009, pp. 1–17.
- [65] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. R. Crouch, *Principles of instrumental analysis (6th edition).* Canada, 2007.
- [66] A. Sharma and S. G. Schulman, “Introduction to Fluorescence Spectroscopy,” *Magn. Reson. Chem.*, vol. 39, no. 5, pp. 299–299, 2001.
- [67] A. Public Health Association, “APHA Method 4500-CL: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater,” vol. 552, no. 18, p. 17, 1992.
- [68] F. E. Scully, A. C. Hartman, A. Rule, and N. Leblanc, “Disinfection interference in wastewaters by natural organic nitrogen compounds,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 30, no. 5, pp. 1465–1471, 1996.
- [69] J. Rodier, *L’analyse de l’eau- 8ème édition- Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer*, 8ème. 1996.
- [70] S. Beeharry, S. Sihota, and C. Kelly, “Profiling chlorine residuals using DPD and amperometric field test kits in a chlorinated small drinking water system with ammonia present in source water,” *Environ. Heal. Rev.*, vol. 61, no. 2, pp. 39–49, 2018.
- [71] R. L. Valentine and C. T. Jafvert, “Reaction Scheme for the Chlorination of Ammoniacal Water,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 26, no. 3, pp. 577–586, 1992.
- [72] J. F. Van Staden and R. E. Taljaard, “Determination of ammonia in water and industrial

- effluent streams with the indophenol blue method using sequential injection analysis," *Anal. Chim. Acta*, vol. 344, no. 3, pp. 281–289, 1997.
- [73] D. K. Loan, T. H. Con, T. T. Hong, L. Thi, and M. Ly, "Quick Determination of Ammonia Ions in Water Environment Based on Thymol Color Creating Reaction," *Environ. Sci.*, vol. 1, no. 2, pp. 83–92, 2013.
- [74] Y. Moliner-Martínez, R. Herráez-Hernández, and P. Campíns-Falcó, "Improved detection limit for ammonium/ammonia achieved by Berthelot's reaction by use of solid-phase extraction coupled to diffuse reflectance spectroscopy," *Anal. Chim. Acta*, vol. 534, no. 2, pp. 327–334, 2005.
- [75] H. Tao, Z. L. Chen, X. Li, Y. L. Yang, and G. B. Li, "Salicylate-spectrophotometric determination of inorganic monochloramine," *Anal. Chim. Acta*, vol. 615, no. 2, pp. 184–190, 2008.
- [76] D. R. Clark, T. W. Fileman, and I. Joint, "Determination of ammonium regeneration rates in the oligotrophic ocean by gas chromatography/mass spectrometry," *Mar. Chem.*, vol. 98, no. 2–4, pp. 121–130, 2006.
- [77] O. Köster and F. Jüttner, "NH₄⁺ utilization and regeneration rates in freshwater lakes determined by GC-MS of derivatised dihydroindophenol," *J. Microbiol. Methods*, vol. 37, no. 1, pp. 65–76, 1999.
- [78] N. Hata, K. Teraguchi, M. Yamaguchi, I. Kasahara, S. Taguchi, and K. Goto, "Spectrophotometric determination of ammonia-nitrogen after preconcentration as indothymol on a glass-fiber filter in the presence of a cationic surfactant," *Mikrochim. Acta*, vol. 106, no. 1–2, pp. 101–108, 1992.
- [79] N. Hata, M. Kawashima, I. Kasahara, and S. Taguchi, "Micro-phase sorbent extraction for trace analysis via in situ sorbent formation: application to the spectrophotometric determination of nitrite in environmental waters," *Anal. Sci.*, vol. 19, no. 2, pp. 239–243, 2003.
- [80] L. G. Forni, V. Mora-arellano, J. E. Packer, and R. L. Willson, "Nitrogen Dioxide and Related Free Radicals: Electron-transfer Reactions with Organic Compounds in Solutions containing Nitrite or Nitrate," *J. CHEM. SOC.*, pp. 1–6, 1986.
- [81] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, "Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay Roberta," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 32, no. 4, pp. 1231–1237, 1998.

- [82] T. Wang and D. A. Reckhow, "Spectrophotometric Method for Determination of Ozone Residual in Water Using ABTS: 2,2'-Azino-Bis (3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonate)," *Ozone Sci. Eng.*, vol. 38, no. 5, pp. 373–381, 2016.
- [83] U. Pinkernell, B. Nowack, H. Gallard, and U. Von Gunten, "Methods for the photometric determination of reactive bromine and chlorine species with ABTS," *Water Res.*, vol. 34, no. 18, pp. 4343–4350, 2000.
- [84] S. Jiang and M. H. Penner, "Selective oxidation of enzyme extracts for improved quantification of peroxidase activity," *Anal. Biochem.*, vol. 476, pp. 20–25, 2015.
- [85] J. Zou, Y. Huang, L. Zhu, Z. Cui, and B. Yuan, "Multi-wavelength spectrophotometric measurement of persulfates using 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) as indicator," *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 216, pp. 214–220, 2019.
- [86] U. Pinkernell, H. J. Lüke and U. Karst, "Selective Photometric Determination of Peroxycarboxylic Acids in the Presence of Hydrogen Peroxide," *Analyst*, vol. 122, no. 6, pp. 567–571, 1997.
- [87] W. Fan, J. Qiao, and X. Guan, "Multi-wavelength spectrophotometric determination of Cr(VI) in water with ABTS," *Chemosphere*, vol. 171, pp. 460–467, 2017.
- [88] F. Soltermann, T. Widler, S. Canonica, and U. Von Gunten, "Comparison of a novel extraction-based colorimetric (ABTS) method with membrane introduction mass spectrometry (MIMS): Trichloramine dynamics in pool water," *Water Res.*, vol. 58, pp. 258–268, 2014.
- [89] R. Brunetto, M., COLIN, C., ROSSET, "High performance reversed phase liquid chromatography of chloramines(Article) [CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE DES CHLORAMINES]," *Analisis*, vol. 15, no. 10, pp. 393–398, 1987.
- [90] H. Ge, G. G. Wallace, and R. A. J. O'Halloran, "Determination of trace amounts of chloramines by liquid chromatographic separation and amperometric detection," *Anal. Chim. Acta*, vol. 237, no. C, pp. 149–153, 1990.
- [91] S. Kinani, B. Richard, Y. Souissi, and S. Bouchonnet, "Analysis of inorganic chloramines in water," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 33, pp. 55–67, 2012.
- [92] M. T. Lukasewycz, C. M. Bieringer, R. J. Liukkonen, M.E. Fitzsimmons, H. F. Corcoran, S. Lin and R. M. Carison., "Analysis of Inorganic and Organic Chloramines: Derivatization with 2-

- Mercaotobenzothiazole," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 23, no. 2, pp. 196–199, 1989.
- [93] J. A. Jersey, E. Choshen, J. N. Jensen, J. D. Johnson, and F. E. Scully, "N-Chloramine Derivatization Mechanism with Dansylsulfonic Acid: Yields and Routes of Reaction," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 24, no. 10, pp. 1536–1541, 1990.
- [94] G. A. Gagnon, H. Baribeau, S. O. Rutledge, R. Dumancic, A. Oehmen, C. Chauret and S. Andrews., "Disinfectant efficacy in distribution systems: A pilot-scale assessment," *J. Water Supply Res. Technol. - AQUA*, vol. 57, no. 7, pp. 507–518, 2008.
- [95] J. Pla-Tolós, Y. Moliner-Martínez, C. Molins-Legua, R. Herráez-Hernández, J. Verdú-Andrés, and P. Campíns-Falcó, "Selective and sensitive method based on capillary liquid chromatography with in-tube solid phase microextraction for determination of monochloramine in water," *J. Chromatogr. A*, vol. 1388, pp. 17–23, 2015.
- [96] Y. Moliner-Martinez, R. Herráez-Hernández, J. Verdú-Andrés, C. Molins-Legua, and P. Campíns-Falcó, "Recent advances of in-tube solid-phase microextraction," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 71, pp. 205–213, 2015.
- [97] K. Kosaka, K. Seki, N. Kimura, Y. Kobayashi, and M. Asami, "Determination of trichloramine in drinking water using headspace gas chromatography/mass spectrometry," *IWA Publ.*, vol. 10, no. 1, pp. 23–29, 2010.
- [98] T. Kotiaho and F. R. Lauritsen, "Chapter 16 Membrane inlet mass spectrometry," *Compr. Anal. Chem.*, pp. 531–557, 2002.
- [99] N. G. Davey, E. T. Krogh, and C. G. Gill, "Membrane-introduction mass spectrometry (MIMS)," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 30, no. 9, pp. 1477–1485, 2011.
- [100] T. M. Allen, M. E. Cisper, P. H. Hemberger, and C. W. Wilkerson, "Simultaneous detection of volatile, semivolatile organic compounds, and organometallic compounds in both air and water matrices by using membrane introduction mass spectrometry," *Int. J. Mass Spectrom.*, vol. 212, no. 1–3, pp. 197–204, 2001.
- [101] T. M. Allen, T. M. Falconer, M. E. Cisper, A. J. Borgerding, and C. W. Wilkerson, "Real-time analysis of methanol in air and water by membrane introduction mass spectrometry," *Anal. Chem.*, vol. 73, no. 20, pp. 4830–4835, 2001.
- [102] T. Kotiaho, A. K. Lister, M. J. Hayward, and R. G. Cooks, "On-line monitoring of chloramine reactions by membrane introduction mass spectrometry," *Talanta*, vol. 38, no. 2, pp. 195–200, 1991.

- [103] T. Kotiaho, M. J. Hayward, and R. G. Cooks, "Direct Determination of Chlorination Products of Organic Amines Using Membrane Introduction Mass Spectrometry," *Anal. Chem.*, vol. 63, no. 17, pp. 1794–1801, 1991.
- [104] C. Shang and E. R. Blatchley, "Differentiation and quantification of free chlorine and inorganic chloramines in aqueous solution by MIMS," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 33, no. 13, pp. 2218–2223, 1999.
- [105] D. W. Emerson, "Microdetermination of Bromine, Chlorine, and Chlorine Dioxide in Water in Any Combination," *Microchem. J.*, vol. 50, no. 1, pp. 116–124, 1994.
- [106] F. W. Sollo, T. E. Larson, and F. F. Mcgurk, "Colorimetric Methods for Bromine," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 5, no. 3, pp. 240–246, 1971.
- [107] K. Grob, "Introduction of water and water-containing solvent mixtures in capillary gas chromatography," *J. Chromatogr.*, vol. 473, pp. 381–390, 1989.
- [108] S. Golfinopoulos, T. D. Lekkas, and A. D. Nikolaou, "Comparison of methods for determination of volatile organic compounds in drinking water," *Chemosphere*, vol. 45, pp. 275–284, 2000.
- [109] A. D. Nikolaou, T. D. Lekkas, S. K. Golfinopoulos, and M. N. Kostopoulou, "Application of different analytical methods for determination of volatile chlorination by-products in drinking water," *Talanta*, vol. 56, no. 4, pp. 717–726, 2002.
- [110] A. Nikolaou, S. Golfinopoulos, L. Rizzo, G. Lofrano, T. Lekkas, and V. Belgiorno, "Optimization of analytical methods for the determination of DBPs: Application to drinking waters from Greece and Italy," *Desalination*, vol. 176, no. 1-3 SPEC. ISS., pp. 25–36, 2005.
- [111] C. García, P. G. Tiedra, A. Ruano, J. A. Gómez, and R. J. García-Villanova, "Evaluation of the liquid-liquid extraction technique and application to the determination of volatile halo-organic compounds in chlorinated water," *J. Chromatogr. A*, vol. 605, no. 2, pp. 251–255, 1992.
- [112] B. Buszewski and T. Ligor, "Application of different extraction methods for the quality control of water," *Water, air soil Pollut.*, vol. 129, pp. 155–165, 2001.
- [113] M. A. Jeannot and F. F. Cantwell, "Solvent microextraction into a single drop," *Anal. Chem.*, vol. 68, no. 13, pp. 2236–2240, 1996.
- [114] M. A. Jeannot and F. F. Cantwell, "Mass Transfer Characteristics of Solvent Extraction into a Single Drop at the Tip of a Syringe Needle," *Anal. Chem.*, vol. 69, no. 2, pp. 235–239, 1997.

- [115] L. D. Alexandrou, M. J. S. Spencer, P. D. Morrison, B. J. Meehan, and O. A. H. Jones, "Micro versus macro solid phase extraction for monitoring water contaminants: A preliminary study using trihalomethanes," *Sci. Total Environ.*, vol. 512–513, pp. 210–214, 2015.
- [116] B. Kolb and L. S. Ettre, *Static headspace-Gas Chromatography: theory and practice, 2nd Edition*. United states, 2006.
- [117] M. A. Stack, G. Fitzgerald, S. O'Connell, and K. J. James, "Measurement of trihalomethanes in potable and recreational waters using solid phase micro extraction with gas chromatography-mass spectrometry," *Chemosphere*, vol. 41, no. 11, pp. 1821–1826, 2000.
- [118] R. Maia, M. Correia, I. M. B. Pereira, and V. M. Belez, "Optimization of HS-SPME analytical conditions using factorial design for trihalomethanes determination in swimming pool water samples," *Microchem. J.*, vol. 112, pp. 164–171, 2014.
- [119] J. W. Munch, "Method 524.3: Measurement of purgeable organic compounds in water by capillary column gas chromatography/mass spectrometry," *EPA Rep.*, vol. 0, p. 47, 1995.
- [120] A. Tor and M. E. Aydin, "Application of liquid-phase microextraction to the analysis of trihalomethanes in water," *Anal. Chim. Acta*, vol. 575, no. 1, pp. 138–143, 2006.
- [121] T. Hyötyläinen and M. L. Riekkola, "Sorbent- and liquid-phase microextraction techniques and membrane-assisted extraction in combination with gas chromatographic analysis: A review," *Anal. Chim. Acta*, vol. 614, no. 1, pp. 27–37, 2008.
- [122] G. Geme, M. A. Brown, P. Simone, and G. L. Emmert, "Measuring the concentrations of drinking water disinfection by-products using capillary membrane sampling-flow injection analysis," *Water Res.*, vol. 39, no. 16, pp. 3827–3836, 2005.
- [123] M. A. Brown and G. L. Emmert, "On-line monitoring of trihalomethane concentrations in drinking water distribution systems using capillary membrane sampling-gas chromatography," *Anal. Chim. Acta*, vol. 555, no. 1, pp. 75–83, 2006.
- [124] M. S. Moss and H. J. Rylance, "The Fujiwara reaction: some observations on the mechanism," *Nature*, no. 503, pp. 945–946, 1966.
- [125] J. F. Reith, W. C. Van Ditmarsch, and T. De Ruiter, "An improved procedure for application of the Fujiwara reaction in the determination of organic halides," *Analyst*, vol. 99, no. 1183, pp. 652–656, 1974.
- [126] G. A. Lugg, "Fujiwara Reaction and Determination of Carbon Tetrachloride, Chloroform, Tetrachloroethane, and Trichloroethylene in Air," *Anal. Chem.*, vol. 38, no. 11, pp. 1532–

- 1536, 1966.
- [127] D. A. Reckhow and P. D. Pierce, *A simple spectrophotometric method for the determination of THMs in drinking water*. AWWA Research Foundation and American Water Works Association, 1992.
- [128] A. M. Taha, N. A. El-rabbat, M. E. El-kommos, and H. Refat, "Rapid Spectrophotometric Assay of Phenothiazine Drugs in Pharmaceutical Preparations," vol. 108, no. 1500, pp. 1500–1505, 1983.
- [129] Yang, "Development of methodology and instrumentation for determination of chloroform in water, Ph.D. Thesis," vol. Oregon Sta, 1997.
- [130] T. S. U. Aoki and M. M., "Continuous flow method for simultaneous determination of nitrate and ammonia in water," *Environ. Sci. Tech.* 20(5) 515-517, vol. 20, no. 5, pp. 515–517, 1986.
- [131] G. L. Emmert, G. Geme, M. A. Brown, and P. S. Simone, "A single automated instrument for monitoring total trihalomethane and total haloacetic acid concentrations in near real-time," *Anal. Chim. Acta*, vol. 656, no. 1–2, pp. 1–7, 2009.
- [132] J. Louch, "Fiber optic sensors and spectrometry for the detection of volatile Gem-polyhalogenated hydrocarbons," Oregon State university, 1991.
- [133] A. Cerdà and V. Cerdà, *An introduction to flow analysis*, SCIWARE? s. Spain, 2009.
- [134] L. T. Skeggs, "An automatic method for colorimetric analysis," *Int. Rev. Law, Comput. Technol.*, vol. 28, no. 3, pp. 311–322, 1957.
- [135] E. H. Hansen and J. Růžička, "Flow injection analyses. Part I. A new concept of fast continuous flow analysis," *Anal. Chim. Acta*, vol. 78, no. 1, pp. 145–157, 1975.
- [136] T. Li-Ching, S. Xiao-Ping, X. Yi-Yun, and Z. Zheng-Liang, "Segmental flow-injection analysis: device and applications," *Anal. Chim. Acta*, vol. 238, no. C, pp. 183–190, 1990.
- [137] J. Růžička, "Flow-injection methods: a new tool for instrumental analysis," *Philos. Trans. R. Soc. A*, vol. 305, pp. 345–656, 1982.
- [138] E. A. G. Zagatto, I. L. Mattos, and A. O. Jacintho, "Determination of sucrose in sugar-cane juice and molasses by flow-injection spectrophotometry," *Anal. Chim. Acta*, vol. 204, no. C, pp. 259–270, 1988.
- [139] V. Cerda *et al.*, "Flow techniques in water analysis," *Talanta*, vol. 50, no. 4, pp. 695–705, 1999.

- [140] J. Ruzicka and G. D. Marshall, "Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays," *Anal. Chim. Acta*, vol. 237, no. C, pp. 329–343, 1990.
- [141] B. Karlberg and G. E. Pacey, *Flow injection analysis: A practical guide*. USA, 1989.
- [142] D. A. Weeks and K. S. Johnson, "Solenoid pumps for flow injection analysis," *Anal. Chem.*, vol. 68, no. 15, pp. 2717–2719, 1996.
- [143] E. A. G. Zagatto, C. C. Oliveira, A. Townshend, and P. J. Worsfold, *Flow analysis with spectrophotometric and luminometric detection*. USA, 2012.
- [144] B. F. Reis, M. F. Giné, E. A. G. Zagatto, J. L. F. C. Lima, and R. A. Lapa, "Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests," *Anal. Chim. Acta*, vol. 293, no. 1–2, pp. 129–138, 1994.
- [145] F. Albertús, A. Cladera, V. Cerdà, and B. Horstkotte, "A robust multisyringe system for process flow analysis," *Analyst*, vol. 124, no. 9, pp. 1373–1381, 1999.
- [146] V. Cerdà, L. Ferrer, L. A. Portugal, C. T. de Souza, and S. L. C. Ferreira, "Multisyringe flow injection analysis in spectroanalytical techniques – A review," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 98, pp. 1–18, 2018.
- [147] L. Nord and B. Kalberg, "An automated extraction system for flame atomic absorption spectrometry," *Anal. Chim. Acta*, vol. 125, pp. 199–204, 1981.
- [148] C. I. C. Silvestre, J. L. M. Santos, J. L. F. C. Lima, and E. A. G. Zagatto, "Liquid-liquid extraction in flow analysis: A critical review," *Anal. Chim. Acta*, vol. 652, no. 1–2, pp. 54–65, 2009.
- [149] S. Motomizu, M. Oshima and T. Kuroda, "Spectrophotometric Determination of Anionic Surfactants in Water After Solvent Extraction Coupled with Flow Injection," *Analyst*, vol. 113, no. May, pp. 747–753, 1988.
- [150] A. N. Anthemidis, G. A. Zachariadis, C. G. Farastelis, and J. A. Stratis, "On-line liquid-liquid extraction system using a new phase separator for flame atomic absorption spectrometric determination of ultra-trace cadmium in natural waters," *Talanta*, vol. 62, no. 3, pp. 437–443, 2004.
- [151] T. Sakai and N. Teshima, "Advancement of flow-based analysis with alternative chemical reactions and new devices for environmental and biological samples," *Anal. Sci.*, vol. 24, no. 7, pp. 855–864, 2008.

- [152] E. M. Thurman and K. Snavely, "Advances in solid-phase extraction disks for environmental chemistry," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 19, no. 1, pp. 18–26, 2000.
- [153] A. M. Serra, J. M. Estela, B. Coulomb, J. L. Boudenne, and V. Cerdà, "Solid phase extraction - Multisyringe flow injection system for the spectrophotometric determination of selenium with 2,3-diaminonaphthalene," *Talanta*, vol. 81, no. 1–2, pp. 572–577, 2010.
- [154] C. Chávez-Moreno, L. Ferrer, L. Hinojosa-Reyes, A. Hernández-Ramírez, V. Cerdà, and J. Guzmán-Mar, "On-line monitoring of the photocatalytic degradation of 2,4-D and dicamba using a solid-phase extraction-multisyringe flow injection system," *J. Environ. Manage.*, vol. 129, pp. 377–383, 2013.
- [155] M. Del Rosario Brunetto *et al.*, "Development of a MSFIA sample treatment system as front end of GC-MS for atenolol and propranolol determination in human plasma," *Talanta*, vol. 132, pp. 15–22, 2015.
- [156] N. Tanaka, H. Kobayashi, K. Nakanishi, H. Minakuchi, and N. Ishizuka, "Peer Reviewed: Monolithic LC Columns," *Anal. Chem.*, vol. 73, no. 15, pp. 420 A-429 A, 2001.
- [157] K. Cabrera, "Applications of silica-based monolithic HPLC columns," *J. Sep. Sci.*, vol. 27, no. 10–11, pp. 843–852, 2004.
- [158] M. A. Obando, J. M. Estela, and V. Cerdà, "Multi-syringe chromatography (MSC) system for the on-line solid-phase extraction and determination of hydrochlorothiazide and losartan potassium in superficial water, groundwater and wastewater outlet samples," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 48, no. 1, pp. 212–217, 2008.
- [159] M. Fernández, R. Forteza, and V. Cerdá, "Multisyringe Chromatography (MSC): An Effective and Low Cost Tool for Water-Soluble Vitamin Separation," *Anal. Lett.*, vol. 45, no. 17, pp. 2637–2647, 2012.
- [160] C. Fernández, M. S. Larrechi, R. Forteza, V. Cerdà, and M. P. Callao, "Multisyringe chromatography (MSC) using a monolithic column for the determination of sulphonated azo dyes," *Talanta*, vol. 82, no. 1, pp. 137–142, 2010.
- [161] E. Guevara-Almaraz, L. Hinojosa-Reyes, A. Caballero-Quintero, E. Ruiz-Ruiz, A. Hernández-Ramírez, and J. L. Guzmán-Mar, "Potential of multisyringe chromatography for the on-line monitoring of the photocatalytic degradation of antituberculosis drugs in aqueous solution," *Chemosphere*, vol. 121, pp. 68–75, 2015.
- [162] G. Gordon, D. L. Sweetin, K. Smith, and G. E. Pacey, "Improvements in the N,N-diethyl-p-

- phenylenediamine method for the determination of free and combined residual chlorine through the use of FIA," *Talanta*, vol. 38, no. 2, pp. 145–149, 1991.
- [163] B. Saad, W. T. Wai, M. S. Jab, W. S. Wan Ngah, M. I. Saleh, and J. M. Slater, "Development of flow injection spectrophotometric methods for the determination of free available chlorine and total available chlorine: Comparative study," *Anal. Chim. Acta*, vol. 537, no. 1–2, pp. 197–206, 2005.
- [164] M. B. Heeb, I. Kristiana, D. Trogolo, J. S. Arey, and U. von Gunten, "Formation and reactivity of inorganic and organic chloramines and bromamines during oxidative water treatment," *Water Res.*, vol. 110, pp. 91–101, Mar. 2017.
- [165] APHA/AWWA/WEF, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater," *Stand. Methods*, p. 541, 2012.
- [166] E. Doctorale, S. Pour, and L. E. Gay, "Nicolas Cimetière Etude de la décomposition de la monochloramine en milieu aqueux et réactivité avec des composés phénoliques," 2009.
- [167] L. M. Schurter, P. P. Bachelor, and D. W. Margerum, "Nonmetal Redox Kinetics Mono-Di-Trichloramine Rxns with Cyanide Ion," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 29, no. 4, pp. 1127–1134, 1995.
- [168] J. D. Johnson and R. Overby, "Bromine and bromamine disinfection chemistry," *J. Sanit. Eng. Div.*, vol. 97, no. 5, pp. 617–628, 1971.
- [169] J. Lagiere, N. H. El Najjar, K. Dubourg, S. Labarthe, and C. Ohayon, "La chimie du brome appliquée à la désinfection des eaux de piscines : étude bibliographique," *J. water Sci.*, vol. 30, no. 3, p. 227, 2018.
- [170] V. F. Ximenes, L. M. Da Fonseca, and A. C. De Almeida, "Taurine bromamine: A potent oxidant of tryptophan residues in albumin," *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 507, no. 2, pp. 315–322, 2011.
- [171] S. Allard, W. Hu, J.-B. Le Menn, K. Cadee, H. Gallard, and J.-P. Croué, "Method Development for Quantification of Bromochloramine Using Membrane Introduction Mass Spectrometry," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 52, no. 14, pp. 7805–7812, 2018.
- [172] H. Galal-Gorchev and J. C. Morris, "Formation and Stability of Bromamide, Bromimide, and Nitrogen Tribromide in Aqueous Solution," *Inorg. Chem.*, vol. 4, no. 6, pp. 899–905, 1965.
- [173] J. Luh and B. J. Mariñas, "Kinetics of bromochloramine formation and decomposition," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 48, no. 5, pp. 2843–2852, 2014.

- [174] J. L. Adcock, P. S. Francis, K. M. Agg, G. D. Marshall, and N. W. Barnett, "A hybrid FIA/HPLC system incorporating monolithic column chromatography," *Anal. Chim. Acta*, vol. 600, no. 1-2 SPEC. ISS., pp. 136–141, 2007.
- [175] H. Mana and U. Spohn, "Rapid and selective determination of ammonium by fluorimetric flow injection analysis," *Fresenius. J. Anal. Chem.*, vol. 366, no. 8, pp. 825–829, 2000.
- [176] G. Gramss, "Formation of the Azodication (ABTS 2 +) from ABTS in Sterile Plant Cultures : Root – Exuded Oxidoreductases Contribute to Rhizosphere Priming," *Soils systems*, vol. 2, no. 26, 2018.
- [177] P. M. A. Toivonen and C. Lu, "Differential quenching of free chlorine by organic compounds potentially exuded from injured plant tissues," *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 86, pp. 192–194, 2013.
- [178] T. Y. Zhang *et al.*, "Identification and quantification of ineffective chlorine by NaAsO₂ selective quenching method during drinking water disinfection," *Chem. Eng. J.*, vol. 277, pp. 295–302, 2015.
- [179] F. Robert-Peillard E. P. Barco, M. Ciulu, C. Demelas, F. Théraulaz, J. L. Boudenne and B. Coulomb, "High throughput determination of ammonium and primary amine compounds in environmental and food samples," *Microchem. J.*, vol. 133, pp. 216–221, 2017.
- [180] S. M. Lloret, J. V. Andrés, C. M. Legua, and P. C. Falcó, "Determination of ammonia and primary amine compounds and Kjeldahl nitrogen in water samples with a modified Roth's fluorimetric method," *Talanta*, vol. 65, no. 4, pp. 869–875, 2005.
- [181] Y. Liang, C. Yan, Q. Guo, J. Xu, and H. Hu, "Spectrophotometric determination of ammonia nitrogen in water by flow injection analysis based on NH₃ - o-phthalaldehyde -Na₂SO₃ reaction," *Anal. Chem. Res.*, vol. 10, pp. 1–8, 2016.
- [182] European Commission, "Règlement (CE) No 1272/2008," *Off. J. Eur. Union*, vol. L 353, no. 2, pp. 1–1355, 2008.
- [183] A. Mehrsheikh, M. Bleeke, S. Brosillon, A. Laplanche, and P. Roche, "Investigation of the mechanism of chlorination of glyphosate and glycine in water," *Water Res.*, vol. 40, no. 16, pp. 3003–3014, 2006.
- [184] R. Chehab, B. Coulomb, J. L. Boudenne, and F. Robert-Peillard, "Development of an automated system for the analysis of inorganic chloramines in swimming pools via multi-syringe chromatography and photometric detection with ABTS," *Talanta*, vol. 207, 2020.

- [185] C. M. Villanueva, S. Cordier, L. Font-Ribera, L. A. Salas, and P. Levallois, "Overview of Disinfection By-products and Associated Health Effects," *Curr. Environ. Heal. reports*, vol. 2, no. 1, pp. 107–115, 2015.
- [186] J. L. Pérez Pavón, S. Herrero Martín, C. García Pinto, and B. Moreno Cordero, "Determination of trihalomethanes in water samples: A review," *Anal. Chim. Acta*, vol. 629, no. 1–2, pp. 6–23, 2008.
- [187] K. Fujiwara, "New reaction for the detection of chloroform," *Naturforsch Ges Rostock*, vol. 33, no. 6, pp. 33–43, 1917.
- [188] W. H. Cole, "The pyridine test as a quantitative method for the estimation of minute amounts of chloroform," *Journl Biol. Chem.*, vol. 71, pp. 173–180, 1926.
- [189] D. L. Rodman, N. A. Carrington, H. Qiu, K. Goswami, and Z. L. Xue, "Spectroscopic detection of halocarbons using modified Fujiwara reactions," *Anal. Chim. Acta*, vol. 548, no. 1–2, pp. 143–147, 2005.
- [190] *Arrêté du 19 octobre 2017 relatif aux méthodes d'analyse utilisées dans le cadre du contrôle sanitaire des eaux*. 2017.
- [191] N. Ratanawimarnwong, T. Pluangklang, T. Chysiri, and D. Nacapricha, "New membraneless vaporization unit coupled with flow systems for analysis of ethanol," *Anal. Chim. Acta*, vol. 796, pp. 61–67, 2013.
- [192] K. Sereenonchai *et al.*, "Membraneless vaporization unit for direct analysis of solid sample," *Anal. Chim. Acta*, vol. 597, no. 1, pp. 157–162, 2007.

Abstract

Chlorination of water is widely used to reduce the risk of waterborne infections. However, even if chlorine is very disinfectant-effective, it can also react with organic and inorganic species present in water leading to the formation of unwanted disinfection-by-products. These latter, especially inorganic chloramines and trihalomethanes, are known to pose human health problems. The quantification of these disinfection-by-products is a major challenge because as far as we know there is no sensitive, selective, simple, automated and low-cost method that can discriminate inorganic chloramines or analyze total trihalomethanes without interferences from other compounds.

The objective of this research is thus, in one hand, to develop a method to analyze inorganic chloramines (or bromamines) and, in another hand, a method to analyze trihalomethanes in water. The two systems developed in this study are based on flow analysis methods in order to facilitate the automatization of these systems and minimize the cost of their developments.

The first system developed is based on an original of inorganic chloramines flow analysis method in water, using a Multi-Syringe Chromatography module (MSC). Inorganic chloramines are eluted and separated by using a monolithic low-pressure column, then post-column derivatized with a chromophoric reagent (ABTS) to improve sensitivity (detection limits around $10 \mu\text{g.L}^{-1}$) and selectivity (no interferences from organic chloramines). A method to differentiate chlorine reactive species (free chlorine and chloramines) and bromine reactive species (free bromine and bromamines) is also proposed by optimizing the reaction medium conditions.

The second system has been developed to analyze trihalomethanes in water; it used an improved version of the Fujiwara reaction. The optimization of this reaction allows to carry it out at room temperature thanks to use of an organic solvent (DMSO), while improving the performances of the method. Coupling of this reaction with a solid phase extraction and preconcentration method leads to reach very good quantification limits, consistent with the requirements of the European regulation on drinking waters.

The development of these two systems enables quantification of these two families of disinfection by-products in a sensitive, reliable, selective and cheap way using automated analysis techniques, and adaptable to on-site analysis.

Keywords: chlorination, water, disinfection-by-products, inorganic chloramines, trihalomethanes, flow analysis.

Résumé

La désinfection de l'eau par le chlore est largement répandue dans le monde afin de limiter les risques d'infections liés à la qualité microbiologique de l'eau. Cependant, le chlore peut réagir avec des composés organiques et inorganiques présents dans les eaux en formant des sous-produits de désinfection qui posent des problèmes de santé humaine au vu de leur toxicité. Parmi ces sous-produits, les chloramines inorganiques et les trihalométhanes sont les composés majeurs formés dans les eaux. La quantification de ces sous-produits de désinfection est un défi majeur car il n'existe pas jusqu'à maintenant de méthode d'analyse sur site, sensible, sélective, simple, automatisable et peu coûteuse pour doser et différencier les chloramines inorganiques, ou pour analyser les trihalométhanes totaux sans interférences par d'autres composés.

L'objectif de cette recherche est de développer d'une part une méthode pour analyser les chloramines (ou les bromamines) inorganiques et, d'autre part, une méthode pour analyser les trihalométhanes dans les eaux. Les systèmes développés dans cette étude sont basés sur des méthodes d'analyse en flux afin de faciliter l'automatisation de ces systèmes et de minimiser leur coût de développement.

Le premier système développé repose sur une méthode originale d'analyse en flux des chloramines inorganiques dans les eaux, utilisant la chromatographie multi-seringue (MSC). Les chloramines inorganiques sont éluées et séparées sur une colonne monolithique basse pression, puis dérivées par une réaction post colonne avec un chromophore spécifique (ABTS) afin d'améliorer la sensibilité (limites de détection autour de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$) et la sélectivité de la quantification (pas d'interférences des chloramines organiques). Une méthode de discrimination des espèces réactives du chlore (chlore libre, chloramines) et du brome (brome libre, bromamines) est également proposée en adaptant les conditions du milieu réactionnel.

Le deuxième système a été développé pour l'analyse des trihalométhanes ; il utilise une version améliorée de la réaction de Fujiwara. L'optimisation de cette réaction a permis de la réaliser à température ambiante grâce à l'utilisation d'un solvant organique (DMSO), tout en améliorant les performances analytiques de cette réaction. Le couplage de cette réaction à une méthode d'extraction et de préconcentration sur phase solide a permis d'obtenir une méthode sélective avec des limites de quantification répondant aux critères de la réglementation européenne pour l'analyse des eaux destinées à la consommation humaine.

Ces deux systèmes permettent ainsi de quantifier ces deux familles de sous-produits de désinfection d'une manière sensible, fiable, sélective et peu coûteuse en utilisant des techniques d'analyse automatisées et adaptables à une mesure sur site.

Mots Clés : chloration, eau, sous-produits de désinfection, chloramines inorganiques, trihalométhanes, analyse en flux.