

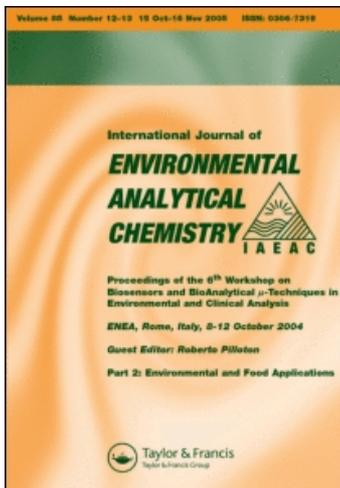
This article was downloaded by:

On: 18 January 2011

Access details: *Access Details: Free Access*

Publisher *Taylor & Francis*

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



International Journal of Environmental Analytical Chemistry

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713640455>

Concentration and Analysis of Numerous Nitrogenous Organic Substances in Natural Waters

C. P. Le Cloirec^a; M. Elmghari^a; J. Morvan^a; G. Martin^a

^a Laboratoire Chimie des Nuisances et Génie de l'Environnement, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, Rennes, France

To cite this Article Cloirec, C. P. Le , Elmghari, M. , Morvan, J. and Martin, G.(1983) 'Concentration and Analysis of Numerous Nitrogenous Organic Substances in Natural Waters', *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 14: 2, 127 – 145

To link to this Article: DOI: 10.1080/03067318308071614

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/03067318308071614>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

Concentration and Analysis of Numerous Nitrogenous Organic Substances in Natural Waterst

C. and P. LE CLOIREC, M. ELMGHARI, J. MORVAN and G. MARTIN
Laboratoire Chimie des Nuisances et Génie de l'Environnement, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, Avenue du Gal Leclerc—35000 Rennes, France

(Received September 10, 1982)

Nitrogenous substances take a great part of organic matter found in natural waters, used for drinking water production. Their global evaluation requires a special method: the amount of organic nitrogen is obtained as the difference between total nitrogen (oxidation by persulfate in alkaline solution) and the sum of all mineral forms.

Organic nitrogen is generally constituted of: humic substances (fulvic acids), chlorophylls, amino acids, peptides and proteins, herbicides and other nitrogenous organic micropollutants.

Macromolecular compounds are separated by filtration or ultrafiltration (humic substances, chlorophylls) or their concentration is evaluated by colorimetric methods (humic substances), or after acid hydrolysis (proteins which give simple amino acids).

The small (soluble) molecules must be first concentrated; either on an ion-exchange resin (amino acids) or by extraction with an organic solvent (micropollutants and herbicides).

Amino acids are analyzed by liquid chromatography and detected by fluorescence after derivatives formation with orthophthaldialdehyde.

Herbicides and nitro-derivatives are extracted with CH_2Cl_2 (at different pH) and analyzed by gas chromatography and capture electron detector.

All these analyses allow us to propose an analytical proceeding usable for a great part of the nitrogenous organic substances found in natural waters, or in drinking water plants.

Les substances azotées représentent une fraction importante des matières organiques présentes dans les eaux de surface à potabiliser. Pour leur évaluation globale, nous utilisons une méthode pour laquelle la teneur en azote organique est obtenue par différence entre l'azote total (oxydation au persulfate en milieu basique) et l'azote minéral.

L'azote organique comprend généralement: des substances humiques (acides, fulviques), des

†Presented at the 12th Annual Symposium on the Analytical Chemistry of Pollutants, Amsterdam, April, 1982.

chlorophylles, des acides aminés, peptides et protéines, des herbicides et autres micropolluants organiques azotés.

Les macromolécules sont séparées par filtration ou ultrafiltration (substances humiques, chlorophylles) ou bien leur teneur est évaluée par colorimétrie (substances humiques) ou après hydrolyse (protéines donnant des acides aminés simples).

Les petites molécules, solubles, doivent préalablement être concentrées:

— soit sur une résine échangeuse d'ions (acides aminés)

— soit par extraction avec un solvant organique (micropolluants et herbicides). Les acides aminés sont analysés en chromatographie liquide, et détectés en fluorescence après dérivation à l'orthophthaldialdéhyde.

Les herbicides et dérivés nitrés ou nitrosés sont extraits au CH_2Cl_2 et analysés par chromatographie gazeuse avec un détecteur à capture d'électrons.

La mise au point de toutes ces analyses permet d'établir un protocole analytique valable pour une grande partie des substances organiques azotées contenues dans les eaux de surface ainsi que les eaux des stations d'eau potable.

KEY WORDS: Amino acids, herbicides, preconcentration, nitrogenous organic matter, HPLC, gaz chromatography, natural and drinking waters.

INTRODUCTION

Les méthodes classiques de dosage de l'azote organique permettent d'obtenir une valeur globale de la charge d'une eau, mais elles ne fournissent aucun renseignement sur la nature de molécules et des fonctions présentes.

Le dosage de l'azote Kjeldahl est peu adapté pour les concentrations habituelles en azote organique des eaux de surface (très souvent inférieures à 1 ou 2 mg N.l^{-1}) et certaines fonctions azotées comme les groupements nitro ne sont pas prises en compte. Nous rappelons ici une méthode plus précise, pour laquelle la teneur en azote organique est obtenue par différence entre l'azote total (oxydation au persulfate en milieu basique) et l'azote minéral.¹

Les eaux de l'Ouest de la France sont tributaires de rejets urbains, agricoles et d'industries agro-alimentaires. Les composés azotés les plus probables sont donc les substances humiques, les protéines et leurs produits de dégradation, les herbicides, pesticides, dérivés nitrés et nitrosés (biocides en général).

Peu d'études ont été consacrées à l'identification de ces produits organiques azotés.² Les principales difficultés viennent de la variété des produits présents³ et des faibles concentrations rencontrées, souvent inférieures aux limites de détection.

Après l'examen des différentes formes des substances azotées susceptibles d'être présentes dans les eaux de surface, la première étape du travail sera donc la concentration, qui sera adaptée à la classe des

produits à isoler:

- pour les acides aminés et peptides: une concentration sur résine échangeuse d'ions;
- pour les herbicides ou autres biocides: une extraction par un solvant organique approprié.

La seconde étape est la séparation et la détection, dépendant aussi des caractéristiques physico-chimiques des substances analysées.

L'ensemble de notre travail a permis la mise au point d'un protocole analytique applicable à l'analyse d'une grande partie des composés azotés solubles présents dans les eaux de surface et celles à potabiliser.

1. EVALUATION DES FORMES GLOBALES

1.1 Principe

La méthode de dosage de l'azote Kjeldahl nécessite des volumes trop importants d'échantillons à minéraliser et ne donne pas des résultats très satisfaisants (trop grande imprécision: $\pm 0,3 \text{ mg N.l}^{-1}$) pour les eaux de rivières ou de stations de potabilisation.

Nous lui préférons la méthode de dosage de l'azote total où l'ensemble de l'azote contenu dans l'échantillon est oxydé en nitrate sous l'action du persulfate de potassium en milieu basique, à chaud et sous pression (autoclave à $120^\circ\text{C}-1 \text{ bar}$) durant 45 minutes (Mackereth,⁴ Nydahl,⁵ Solorzano⁶). L'azote total est ensuite dosé sous forme de nitrates

Cette méthode assez rapide permet d'oxyder simultanément de grandes séries d'échantillons et de travailler sur de petites quantités (volume de la prise d'essai: 5 à 20 ml).¹

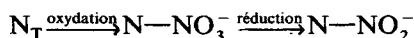
L'azote organique (Norga) est alors déterminé par différence entre l'azote total (N_T) et la somme de toutes les formes minérales:



- l'azote ammoniacal $\text{N}-\text{NH}_4^+$ est mesuré par le méthode au bleu d'indophénol, plutôt que par la méthode de Nessler, vu les faibles teneurs rencontrées dans les eaux de surface.
- l'azote nitreux: $\text{N}-\text{NO}_2^-$ est dosé par diazotation de la sulfanilamide en présence de dichlorure de N-(naphtyl-1) éthylène diamine et mesure spectrophotométrique à 537 nm de la coloration du complexe rose formé (Norme NFT 90-013).
- l'azote nitrique $\text{N}-\text{NO}_3^-$ est réduit en azote nitreux $\text{NO}_3^- \xrightarrow{\text{Cd}} \text{NO}_2^-$ sur une colonne de Cadmium,^{4,24} les ions nitrites étant ensuite dosés avec

une grande précision par la méthode décrite précédemment.

- et pour l'azote total:



L'azote organique global est donc déterminé par différence

$$N_{\text{orga}} = N_T - [N-\text{NH}_4^+ + N-\text{NO}_3^- + N-\text{NO}_2^-]$$

1.2. Précision de la méthode

Pour l'étape d'oxydation, le rendement est très bon puisqu'il atteint presque 100% dans tous les cas, c'est-à-dire que l'azote organique est totalement oxydé en nitrates.²⁵ Tableau I.

TABLEAU I
Rendement d'oxydation de quelques composés azotés
par rapport aux nitrates.

KNO ₃	100%
NaNO ₂	100%
NH ₄ Cl	99,4%
Urée	100%
Histidine	97,5%
Alanine	94,1%

Les macromolécules, comme les acides fulviques, sont également minéralisées et l'azote transformé totalement en nitrates.

L'ensemble du dosage de l'azote organique présente une erreur relative variant de 4 à 6% selon la concentration de l'échantillon (entre 1 à 12 mg N. l⁻¹).

La précision de cette méthode est supérieure à celle de dosage de l'azote Kjeldahl ($\pm 0,3$ mg N. l⁻¹) pour les échantillons contenant de faibles teneurs en azote organique (cas des eaux potables ou des rivières de l'Ouest de la France).

2. ANALYSE DES FORMES DE L'AZOTE ORGANIQUE

2.1. Les classes possibles de composés azotés organiques

Dans les eaux de surface, nous pouvons rencontrer, entre autres:

- Des substances humiques, qui sont principalement des acides

fulviques, renfermant un pourcentage d'environ 2% d'azote (sans compter les petites molécules, comme les pesticides que peuvent retenir ces macromolécules).

- la chlorophylle sous ses trois formes: a, b et c contenant 6,3% d'azote (4 atomes d'azote).
- les acides aminés (7 à 32% d'azote selon les molécules) les peptides et les protéines sont des enchainements des premiers, dont le pourcentage en azote varie selon la nature de leurs maillons.
- les herbicides, dérivés nitrés et nitrosés (nitrophénols, urées substituées, triazines, etc...), amines, renfermant des teneurs variables en azote: 7 à 34% pour les composés que nous savons identifier et doser.

Nous pouvons tout d'abord classer ces composés en deux grandes catégories:

- les composés à masse moléculaire élevée: comme
 - les substances humiques ($20\,000 < M < 100\,000$)
 - les chlorophylles ($M \approx 900$)
 - les peptides et protéines dont la masse molaire dépend de la longueur d'enchainement des maillons d'acides aminés et leur structure tertiaire ($M =$ Plusieurs millions).

Le Tableau II présente les ordres de grandeur de la taille de certaines de ces substances:

TABLEAU II
Taille de quelques substances azotées.

	taille approximative	auteur
chlorophylles	$15 \times 20 \text{ \AA}$	Heller ⁷
substances humiques	1000 \AA	Lemarchand ⁸
bactéries	$500 \text{ à } 2500 \text{ \AA}$	

- les petites molécules telles que les acides aminés et autres micropolluants azotés.

Cette liste n'est pas exhaustive et des produits divers d'origines industrielles peuvent également être rencontrés dans les eaux de surface à des teneurs très variables.

2.2. Description des techniques de séparation et d'analyse

2.2.1. Séparation des grosses molécules: substances humiques, chlorophylles, protéines

Ces macromolécules, présentant un fort encombrement, sont simplement

séparées par filtration ou ultrafiltration.

- Les substances humiques sont évaluées dans les eaux directement par la méthode de dosage des tannins-lignines. En effet, ces molécules sont constituées de polyphénols qui réagissent avec les acides tungstophosphoriques et molybdo-phosphoriques pour donner une coloration bleue dont l'intensité est mesurée à 770 nm. L'étalonnage est réalisé, non pas avec des acides humiques du commerce, mais à l'aide d'extraits de tourbe qui se rapprochent des acides fulviques rencontrés dans les eaux de surface²² (masse moléculaire et composition élémentaire très proches, c'est-à-dire: C=50%, H=5%, N=2%) et permet de doser de 1 à 20 mg de substance humique par litre d'échantillon avec une précision de 0,3 mg.
- les chlorophylles a, b et c qui tiennent une part importante des pigments contenus dans les eaux naturelles, sont des substances azotées de masses molaires voisines de 850–900. Après filtration et extraction par un mélange eau-acétone (10/90%) (Rodier⁹) elles présentent des absorbances maximales à 663, 645, 630 nm selon leur nature.

Une méthode de dosage par chromatographie liquide à haute performance peut également être utilisée.^{10,11}

- les protéines ne peuvent être séparées spécifiquement des autres grosses molécules. Ces macromolécules qui ont des masses molaires comprises entre quelques centaines et un million, sont constituées d'enchaînements d'acides aminés simples, ceux-ci sont libérés lorsque l'on effectue une hydrolyse de l'échantillon en milieu chlorhydrique (HCl à 10%) durant plus de 50 heures à l'ébullition. De meilleurs résultats sont obtenus en poursuivant l'hydrolyse jusqu'à 160 heures, mais on observe alors quelques produits d'oxydation des acides aminés eux-mêmes (Figure 1). Des essais réalisés avec de l'albumine nous ont montré que par cette méthode, on cassait effectivement cette substance en acides aminés simples, identifiables.

Les protéines sont donc analysées dans l'eau, par différence entre le dosage d'acides aminés libres avant et après hydrolyse.

L'ultrafiltration est un procédé de séparation moléculaire. Cette filtration sur membrane permet de séparer les particules dans l'eau ou les substances dissoutes, à l'aide d'une "barrière" semi-perméable qui retient les substances au-dessus d'un "seuil" prédéterminé par les caractéristiques de la membrane (diamètre des pores généralement compris entre 10 et 500 Å).

Par exemple, si l'on effectue l'ultrafiltration d'une eau de surface avec une membrane retenant les substances de tailles moléculaires supérieures à 1000 environ (correspondant à environ 20 Å), il ne restera dans

l'ultrafiltrat que les petites molécules (les protéines, acides humiques, chlorophylles, bactéries étant éliminés).

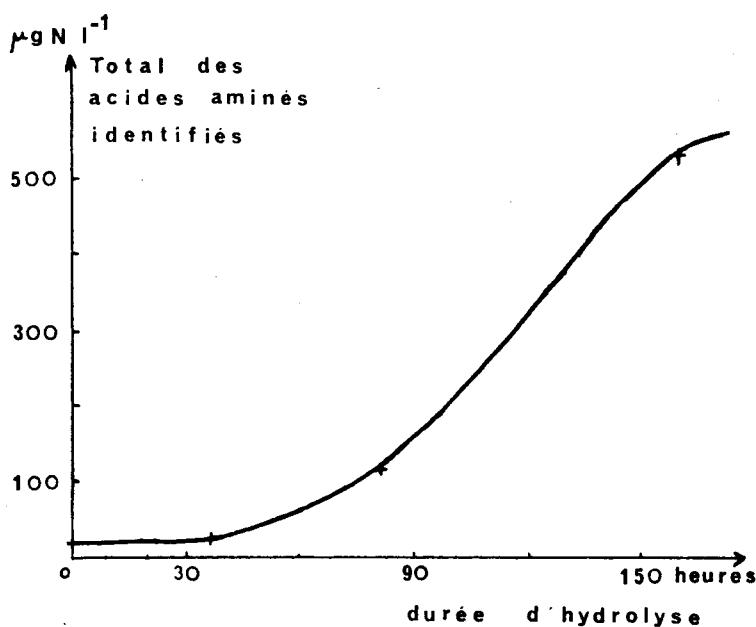
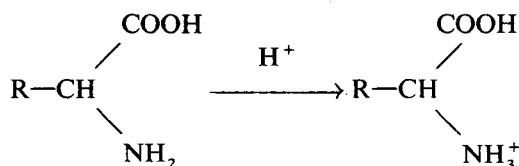


FIGURE 1 Hydrolyse des protéines: influence du temps d'hydrolyse.

2.2.2. Acides aminés et dérivés

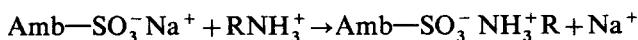
Ils représentent une part importante des composés organiques azotés solubles. (Hutchinson,¹² Kasiske¹³) mais sont cependant présents à de faibles teneurs. Il est donc nécessaire de procéder à leur concentration. Celle-ci est fondée sur leur caractère ionique, puisque très solubles dans l'eau ils ne peuvent être extraits par un solvant organique. Pour un pH très acide, ils sont tous sous leur forme cationique: $\text{pH} < \text{pK}_2$:



Séparation

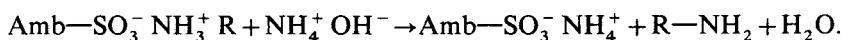
L'échantillon d'eau à analyser (1 litre) est donc acidifié par de l'acide chlorhydrique (HCl concentré: 4 ml) à $\text{pH}=2$.

La séparation s'effectue ensuite sur une résine échangeuse de cations: l'Amberlite IRC 120 sulfonique, qui retient les acides aminés libres selon la réaction:



Concentration

La percolation de l'échantillon est réalisée à une vitesse d'environ 2 à 3 mh^{-1} . Les acides aminés sont ensuite élués par une solution basique: pour éviter l'éluion des métaux éventuellement adsorbés sur la résine, nous utilisons l'ammoniaque (2 fois 50 ml de NH_4OH (N))



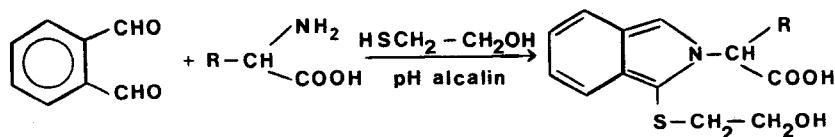
Après évaporation à sec de l'éluat, le résidu est repris avec une solution de tampon borate (acide borique: 0,4 M conduit à $\text{pH}=9,5$ par NaOH). Les coefficients de concentration ainsi obtenus vont de 200 à 1000 et l'efficacité de la résine est comprise entre 90 et 100%.

Analyse

Certains acides aminés peuvent présenter des températures de fusion très élevées ($F > 200^\circ\text{C}$) rendant la chromatographie en phase gazeuse peu applicable à leur analyse directe. La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est alors utilisable:—soit directement: par séparation sur une colonne échangeuse d'ion faible (sphérisorb- NH_2) et détection UV (205 nm),—soit par dérivation à l'aide d'un composé fluorescent (l'orthophthaldialdéhyde), séparation sur une colonne C_{18} et détection par fluorescence.

Dans le cas de la première méthode, les différents acides aminés d'un mélange présentent des temps de rétention très voisins. Nous lui préférons la seconde méthode, avec un système à compression radiale qui permet une bonne séparation et une bonne reproductibilité des résultats.¹⁴

L'orthophthaldialdéhyde (O.P.A.) réagit sur les acides aminés en présence de mercapto-2 éthanol, selon la réaction suivante:



conduisant à des dérivés détectés en fluorescence ($\lambda_{\text{ex}}=390\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=455\text{ nm}$).

Une vingtaine d'acides aminés simples sont ainsi analysés, sauf la proline et la cystéine. Pour le premier, le groupement aminé est engagé dans une structure cyclique et ne peut réagir avec le réactif OPA, dans le second, c'est certainement la présence du groupement S-H libre qui peut changer le site réactionnel. L'analyse complète dure moins de 35 minutes avec un éluant isocratique: méthanol 50%—tampon phosphate NaH_2PO_4 0,1 M à pH=6,6 (Figure 2). De meilleures séparations et un

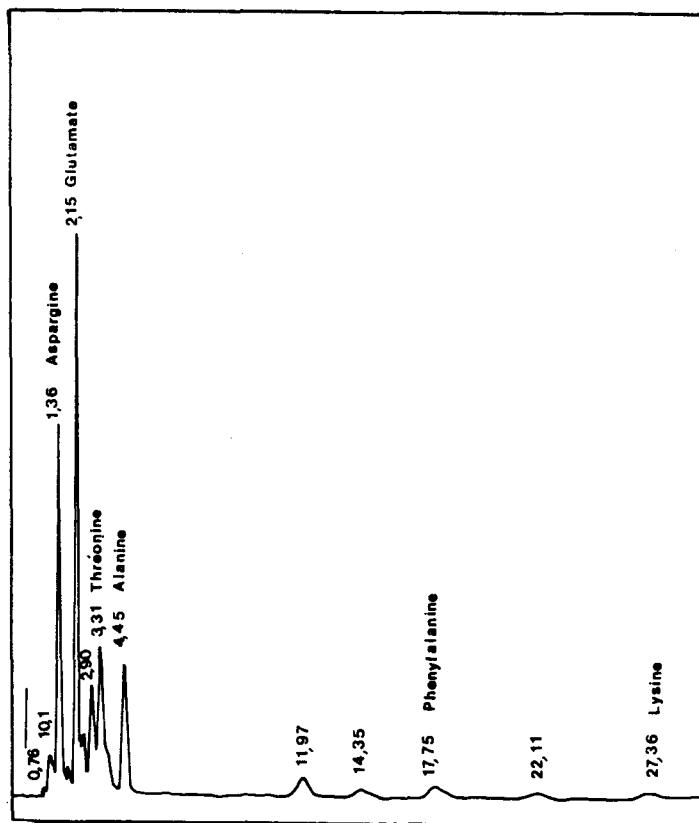


FIGURE 2 Dosage des acides aminés. Elution isocratique: 50-50 méthanol— NaH_2PO_4 0,1 M.

temps d'analyse plus court sont obtenus en utilisant un gradient d'élution. (30 à 70% de méthanol): Figure 3.

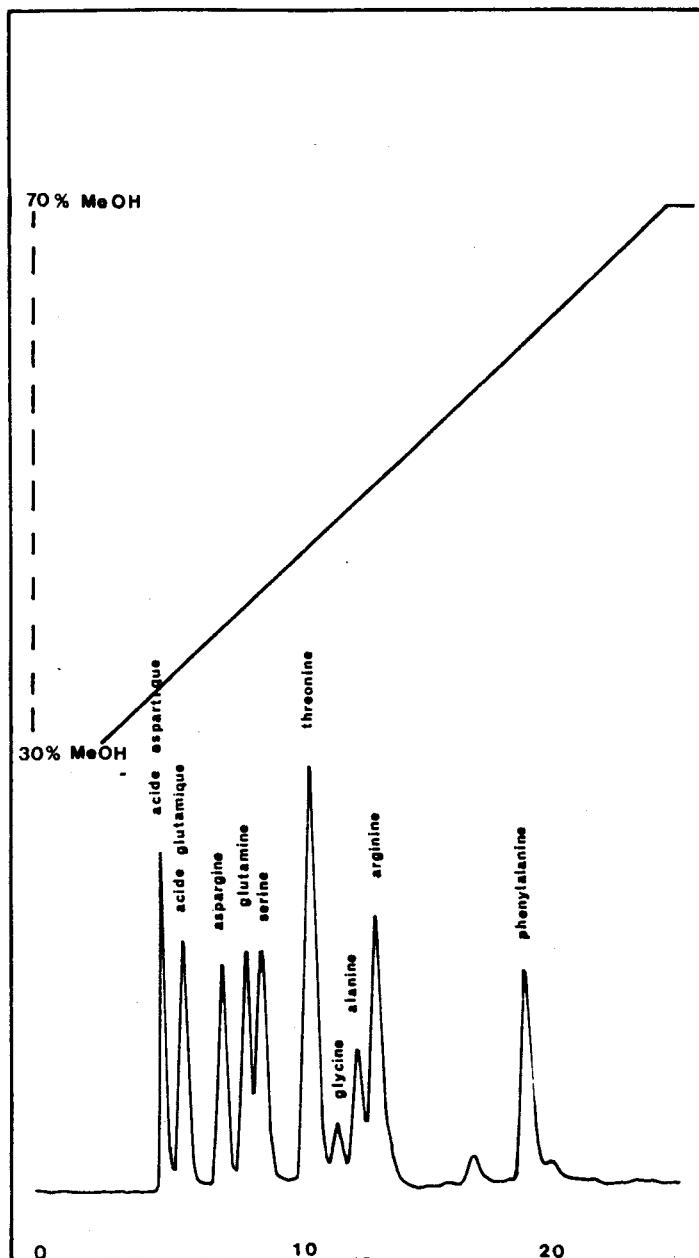
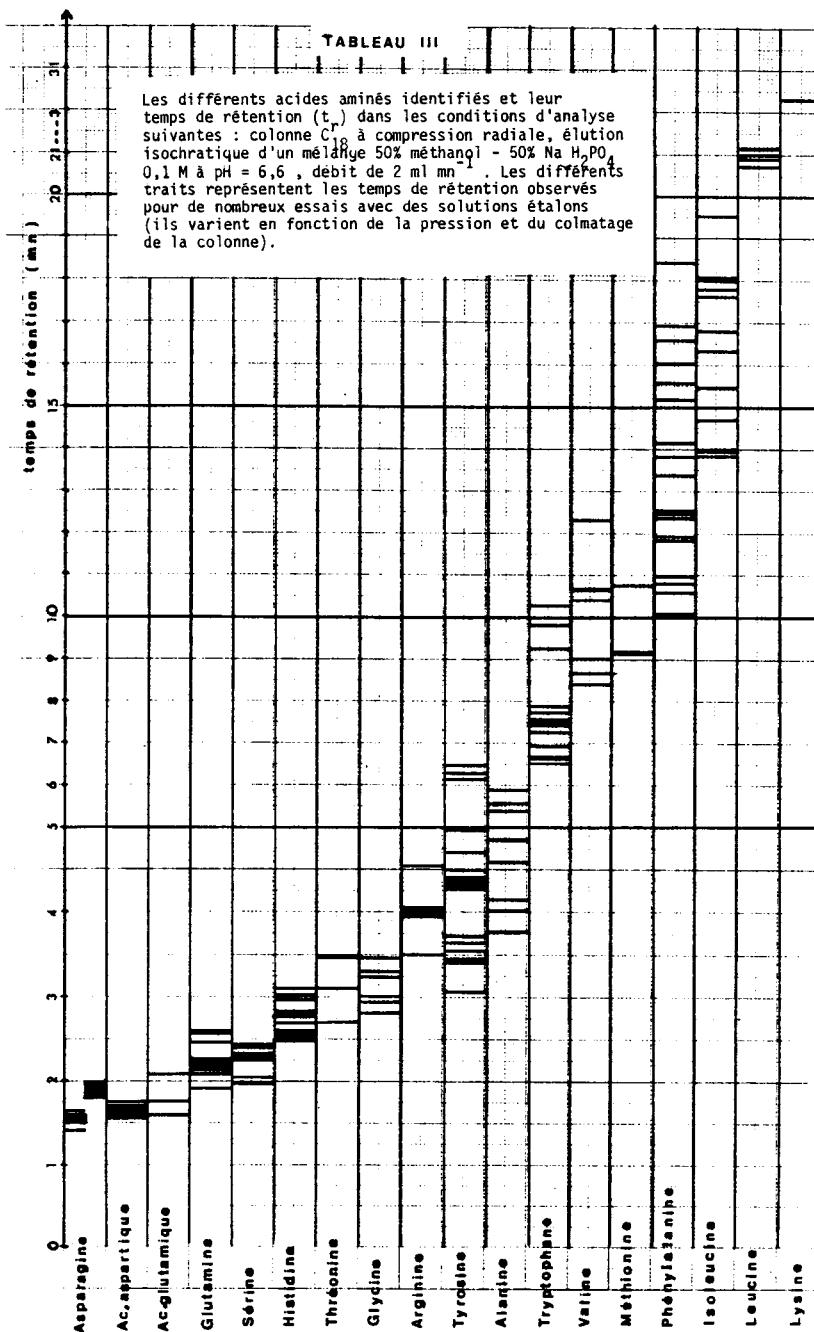


FIGURE 3 Dosage des acides aminés. Utilisation d'un gradient d'élution: méthanol—eau NaH_2PO_4 0,1 M.



Les quantités minimales détectées par cette méthode sont d'environ $20 \cdot 10^{-9}$ g par acide aminé.

Le Tableau III présente l'ensemble des acides aminés analysés, leur structure ainsi que leur temps de rétention lors de nos nombreuses analyses et montre la bonne reproductibilité de l'analyse.

Cette méthode permet également d'effectuer l'analyse et le dosage des acides aminés libérés par l'hydrolyse acide des protéines (cf. Section 1).

Exemple N identifié avant hydrolyse: $25 \mu\text{g N l}^{-1}$

N identifié après hydrolyse $530 \mu\text{g N l}^{-1}$.

2.2.3. Herbicides et autres micropolluants organiques azotés

En ce qui concerne ces formes d'azote organique, les méthodes de concentration sont très diverses: les principales sont l'adsorption sur une résine macro-moléculaire et l'extraction liquide-liquide. Puisque les composés sont moins solubles dans l'eau que dans un solvant organique, nous avons mis en oeuvre la seconde méthode en utilisant le dichlorométhane comme solvant d'extraction. D'après la bibliographie c'est le plus employé pour extraire les substances organiques azotées telles que les amines aromatiques,¹⁵ les pesticides azotés,^{16,17,18} les urées substituées,¹⁹ les carbamates²⁰ et les nitrosamines.²¹

Afin d'extraire les composés ayant des caractères basiques ou acides, nous procédons à l'extraction d'un litre de solution amené à différents pH:

- Acide (pH = 2)
- Neutre (pH de l'échantillon)
- Alcalin (pH = 11)

par deux fois 50 ml de CH_2Cl_2 sous agitation (agitateur à balancement).

Le solvant séché Na_2SO_4 est ensuite évaporé complètement à 50°C (évaporateur rotatif).

Le résidu pouvant être repris par 2 ml seulement de méthanol, le coefficient de concentration atteint donc 500.

La solution de méthanol est analysée par chromatographie en phase gazeuse sur deux colonnes différentes:

- une colonne polaire: carbowax 20 M à 10% sur gaz chrom Q avec une programmation de température de 70°C à 150°C à 5°C min^{-1}
- une colonne moyennement polaire: OV 17 à 3% sur gaz chrom Q avec une programmation de température de 150°C à 250°C à 5°C min^{-1} .

Chaque extrait (neutre, acide et basique) est analysé sur chacune des colonnes, et les produits sont détectés par capture d'électron. Ce type de détecteur est extrêmement sensible aux groupements fonctionnels

électronégatifs, donc particulièrement intéressant pour l'analyse des pesticides, des herbicides, des triazines, des dérivés nitrés et des chloroanilines, en étant insensible aux hydrocarbures. Le Tableau IV présente la liste des composés que nous avons pu identifier dans nos conditions, d'analyse (Il faut noter que cette méthode n'est pas entièrement spécifique des composés azotés: nous avons pu également extraire et identifier dans ces conditions des phtalates, par exemple).

Le temps d'analyse est d'environ 30 minutes. Quelques exemples de chromatogrammes obtenus pour l'analyse d'une eau d'entrée d'une station d'eau potable sont montrés sur les Figures 4 et 5.

CONCLUSION

Etablissement d'un protocole d'analyse des substances organiques azotées des eaux naturelles

Toutes ces analyses permettent donc la détection et le dosage d'une grande partie des substances organiques azotées rencontrées dans les eaux de surface et également dans les eaux des filières de production d'eau potable. L'ensemble est représenté par le schéma suivant: Tableau V: Protocole d'analyse des substances azotées.

Ce protocole d'analyse a permis de dresser un bilan azoté sur des eaux de surface ou sur des eaux à différents stades de la chaîne de potabilisation.²³ Nos résultats permettent une identification moyenne de 60 à 90% des substances azotées comprises dans la valeur de l'azote organique global.

Références

1. A. Laifa, C. Le Cloirec, D. Ombredane et G. Martin, *Comparaison des méthodes d'analyses de l'azote organique dans les eaux de surface* (résultats non encore publiés).
2. G. J. Stander, *Water S.A.*, **6**(1), 1 (1980).
3. M. Fielding et R. F. Packham, *J. Inst. Water Eng. Sci.* **31**, 353 (1977).
4. F. J. H. Mackereth, J. Heron et J. F. Talling, *Freshwater Biological Association Scientific Publication No. 36*, page 69 (1978).
5. F. Nydahl, *Water. Res.* **12**, 1123 (1978).
6. L. Solorzano et J. H. Sharp, *Limnol. Oceanogr.* **25**(4), 751 (1980).
7. R. Heller, *Physiologie végétale* (Masson, Paris, 1977) Tome 1: Nutrition, p. 156.
8. D. Lemarchand, *Contribution à l'étude des possibilités de rétention de matières organiques en solution dans l'eau potable sur charbon actif*. (thèse, Rennes 1981) p. 65.
9. J. Rodier, *Analyse de l'eau* (Dunod, Paris, 1975).
10. Ministeres: *Santé et Sécurité, Agriculture, Environnement et Cadre de Vie* (Analyse des eaux—Méthodes et instructions, Paris, 1980): Détermination et dosage des pigments photosynthétiques.

LISTES DES PRODUITS TESTES POUVANT ETRE EXTRAITS DANS NOS CONDITIONS OPERATOIRES

TABLEAU IV.	réponse en chromatographie		Formule chimique	rapport N M	Origine dans le milieu naturel
	Tr. en ov, 17	mn carbowax			
Nitrobenzène	0,6 à 0,8	3	$C_6H_5NO_2$	0,114	
Cl-benzène carbaryl	0,6 à 0,8		C_6H_4Cl 		carbaryl : insecticide contre doryphore, carpocapse, tordeuse orientale du pêcher, de la grappe. désherbage : poireaux - céleris - pommes de terre
urées substituées: Linuron		0,4		0,112	
Monuron	0,6 à 0,8	1		0,141	désherbage des asperges - de la vigne Dés herbant total pour cours et allées
Métobromuron		3,5		0,108	désherbage pommes de terre - artichauts tabac
Chloroxuron	17,5			0,096	désherbage pois - céleris - poireaux - fraisiers
0. nitrophénoI	1	4,5		0,100	
Dichloraniline 2,3	1,2	8		0,086	
Paranitroanisol	2	9,10		0,091	
Chloramphénicol	2	10		0,087	pisciculture
Méthyl phtalate	2,5	0,4			plastifiant

Trichloramine 2,3,4	3	14	0,3		0,071	
Dinitrotoluène 2,4 ou Cl-dinitrobenzène	4	11 12	0,1		0,154 0,138	
Simazine ou Atrazine	7,5 - 8	17,5-19	4		0,34	Désherbage maïs - asperges - rosiers framboisiers - groseilliers - cassissiers vignes - vergers - poiriers et pommiers pépinières forestières
Aldrine	8			$(CH_3)_2CH-NH$ 	0,32	Désherbage vergers de pommiers - canne à sucre avec simazine = désherbage maïs
Butyl phthalate	9,5	1,8		$C_{12}H_{16}Cl_5$ 		Insecticide interdit en agriculture (arrêté du 2 oct 1972)
Dinoterbe	10	23 - 25	3		0,116	plastifiant Désherbage des céréales - des légumineu- ses fourragères
Dieldrine	12			$C_9H_{12}O_4P_2S_4$ 		Insecticide interdit en agriculture (arrêté du 2 oct. 1972)
Ethyl phthalate		0,6				Plastifiant
Dinosebe	20	25 - 27	3		0,116	Désherbage luzerne - légumineuses fourragères
Nitrophenide ou Nitrofen	22-24	25 - 28	0,3		0,05	Désherbage des blés - avec le : . dinoterbe : pois et haricots, . néburon : blés tendres
DNOC	non détecté dans nos conditions					céréales d'hiver et de printemps.

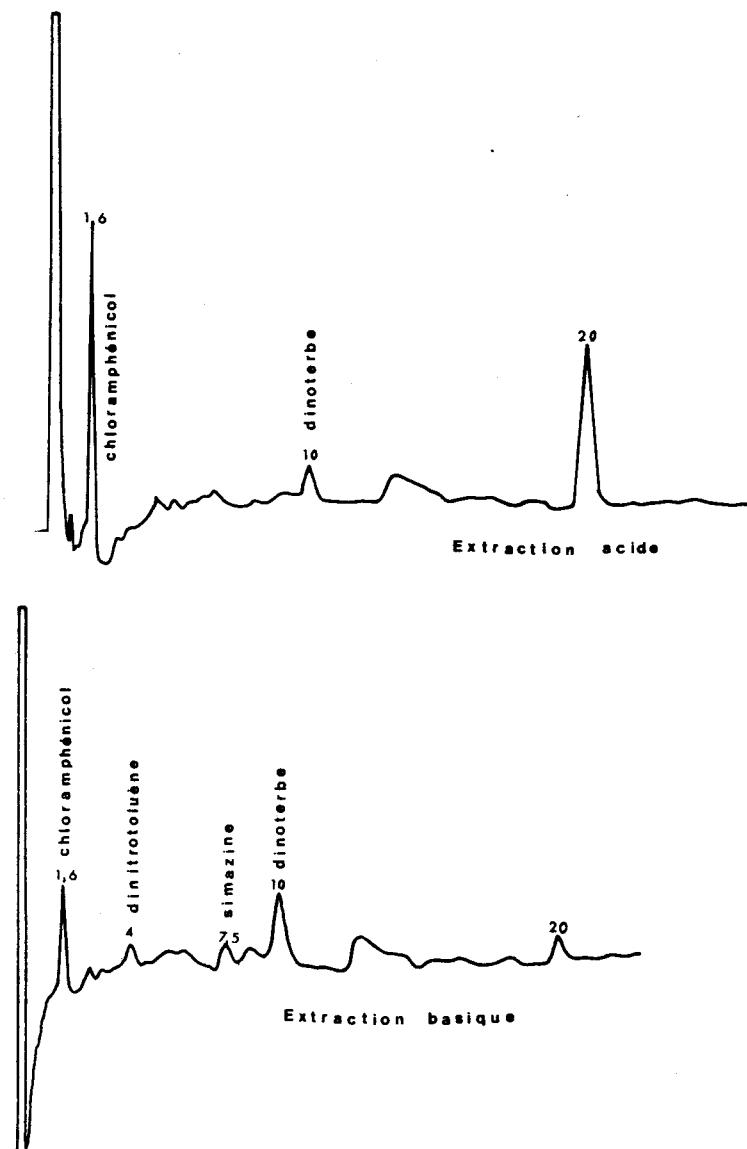


FIGURE 4 Herbicides et dérivés nitrés extraits par CH_2Cl_2 d'une eau de barrage (Cholet—France). Colonne OV 17.

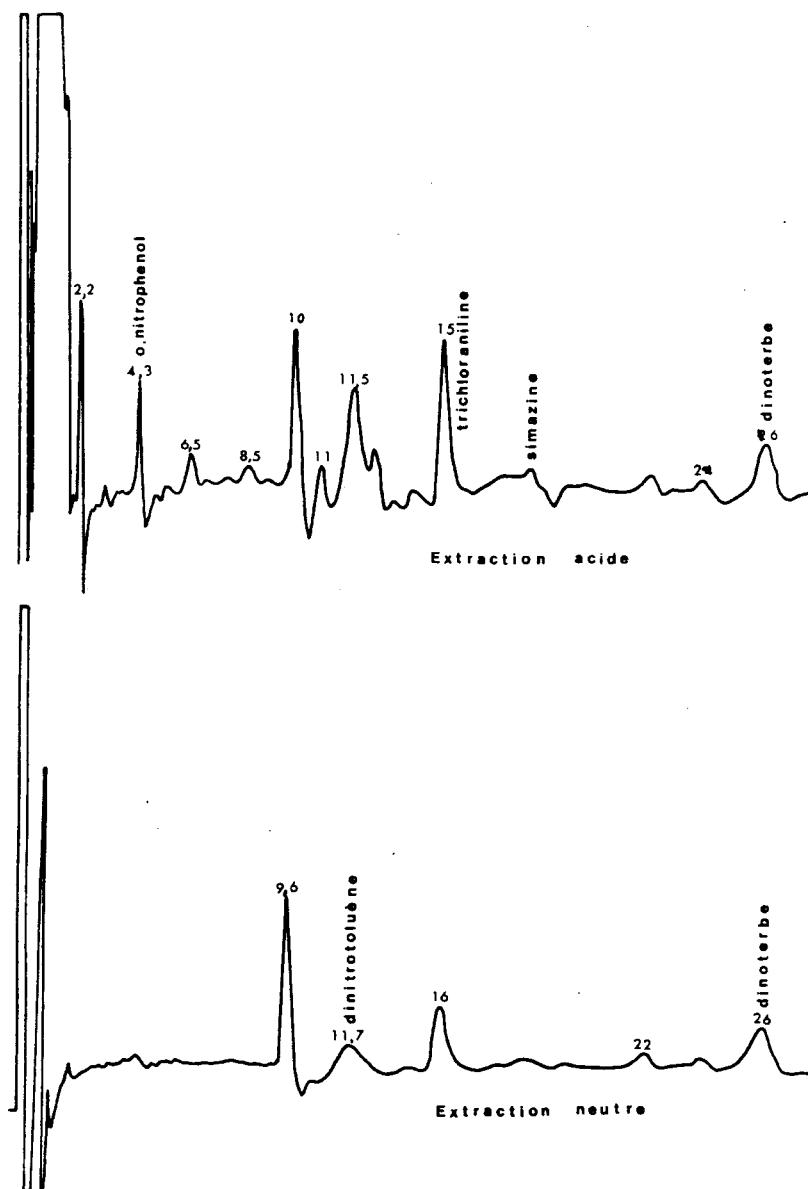
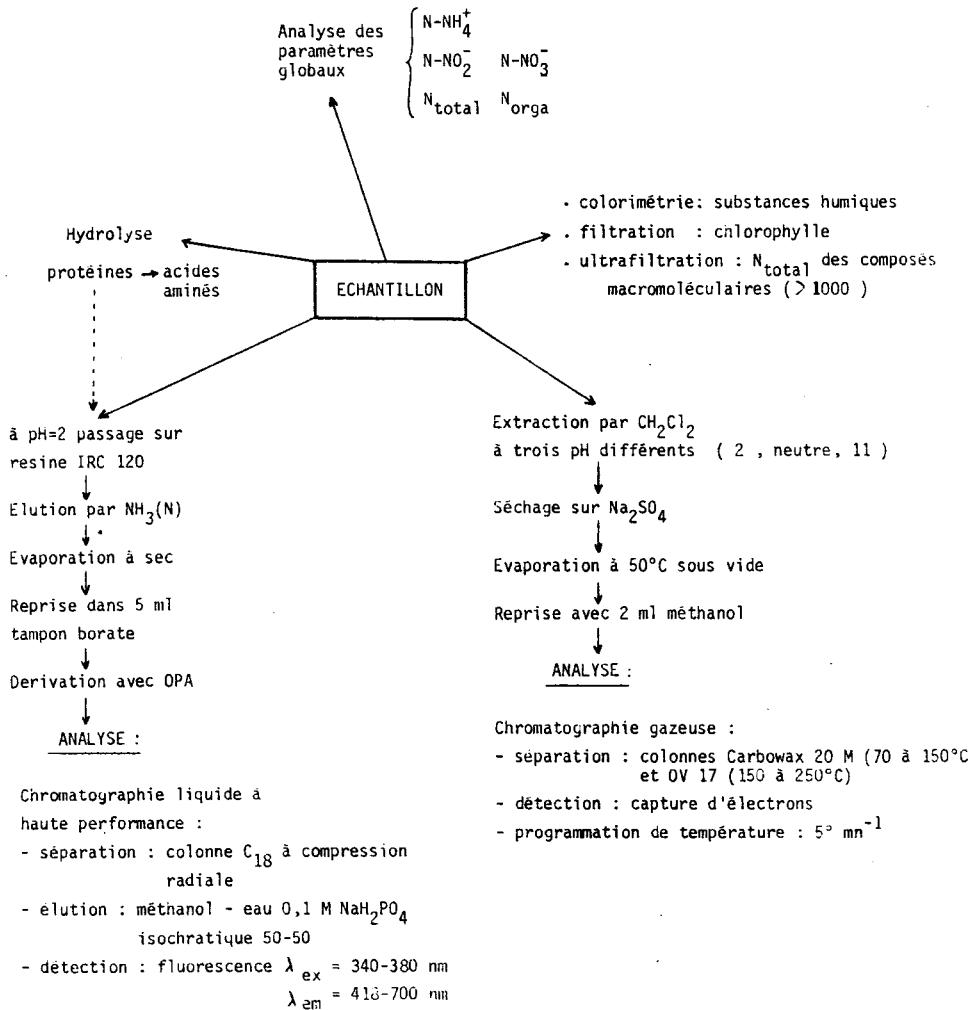


FIGURE 5 Herbicides et dérivés nitrés extraits par CH_2Cl_2 d'une eau de barrage (Cholet—France). Colonne Carbowax 20M.

TABLEAU V : Protocole d'analyse des substances azotées



11. J. Bessiere, *Etude de l'effet des polluants de l'eau sur les pigments chlorophylliens du phytoplancton en vue d'établir un test algue de pollution*. (D.E.A. Paris-Luxembourg, 1979).
12. G. E. Hutchinson, *A Treatise on Limnology*, **1**, 891 (1957).
13. D. Kasiske, K. D. Klinkmuller et M. Sonneborn, *J. Chromatog.*, **149**, 703 (1978).
14. M. Elmghari Tabib, *Analyse de la Micropollution Azotée des Eaux en Cours de Potabilisation. Action de l'ozone sur Quelques Constituants* (Thèse Rennes, 1981).
15. R. C. C. Wegman et G. A. L. de Korte, *Water Res.*, **15**, 391 (1981).
16. J. T. Hurley, *J. AWWA*, **66**(1), 27 (1974).
17. M. J. Aaronson, K. W. Kirby et J. D. Tessari, *Bull. Env. Cont. Tox.*, **25**, 429 (1980).
18. F. Erb, J. Dequidt, A. Dourlens, J. Pommery et P. Colin, *J. Fr. Hydr.*, **9**, **25**, 9 (1978).
19. D. S. Farrington, R. G. Hopkins et J. H. A. Ruzicka, *Analyst*, **102**, 377 (1977).
20. G. R. Pieper, *Bull. Env. Cont. Tox.*, **22**, 167 (1979).
21. M. N. N. Kaido, D. Dean-Raymond, A. J. Francis et M. Alexander, *Water Res.* 1085–1087 (1977).
22. P. Le Cloirec, L. Andre et G. Martin, *Elimination des Substances Humiques* (soumis à la Trib. CEBEDEAU).
23. C. Le Cloirec, P. Le Cloirec et G. Martin, *Bilan des Formes Azotées dans les Eaux* (soumis à la Revue Fr. Sci. Eau).
24. M. P. Stanton, M. J. Capel et F. A. J. Armstrong, *Fisheries and Marine Science Envi. Canada*, Special publication, 42–47 (1974).
25. M. Elmghari, G. Martin, J. Morvan D. Ombredane, G. Bertru et A. Aminot, *L'eau, La Recherche, L'environnement, 4^{ème} Journées Scientifiques et Techniques, Ministère de l'Environnement*. Paris 39–54 (1981).