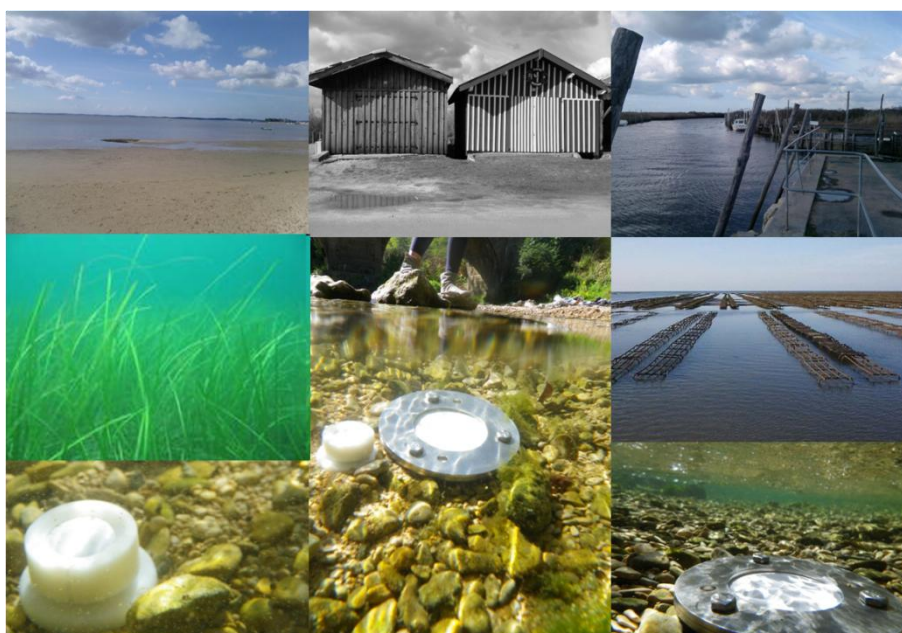


THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE BORDEAUX 1

CHIMIE ENVIRONNEMENTALE

EVALUATION DE LA CONTAMINATION EN PESTICIDES DES
TRIBUTAIRES DU BASSIN D'ARCACHON ET DEVELOPPEMENT D'UN
ECHANTILLONNEUR PASSIF SPECIFIQUE DES HERBICIDES
ANIONIQUES



Vincent Fauvelle

Soutenu 19 décembre 2012

Devant la commission d'examen composée de :

Patrick MAZELLIER	Université de Bordeaux 1	Président
Valérie PICHON	Université Pierre et Marie Curie, Paris 6	Rapporteure
Serge CHIRON	Université de Montpellier 2	Rapporteur
Ian ALLAN	Norwegian Institute of Water Research	Examineur
Azziz ASSOUMANI	Irstea, Lyon	Examineur
Nicolas MAZZELLA	Irstea, Bordeaux	Co-directeur de thèse
Hélène BUDZINSKI	Université de Bordeaux 1	Directrice de thèse

THESE DE DOCTORAT DE
L'UNIVERSITE DE BORDEAUX 1

Ecole Doctorale des Sciences Chimiques

Vincent Fauvelle

Chimie Environnementale

Evaluation de la contamination en pesticides des
tributaires du Bassin d'Arcachon et développement
d'un échantillonneur passif spécifique des herbicides
anioniques

Soutenue le 19 décembre 2012

Devant la commission d'examen composée de :

Patrick Mazellier, Professeur, Université Bordeaux 1, Président

Valérie Pichon, Professeur, Université Pierre et Marie Curie, Rapporteur

Serge Chiron, Directeur de recherche, Université Montpellier, Rapporteur

Ian Allan, Chercheur, Norwegian Institute of Water Research, Examineur

Azziz Assoumani, Chargé de recherche, Irstea Lyon, Examineur

Nicolas Mazzella, Ingénieur de recherche, Irstea Bordeaux, Co-directeur

Hélène Budzinski, Directeur de recherche, Université Bordeaux 1, Directeur

Remerciements

Tout d'abord, j'aimerais adresser mes plus vifs remerciements à Hélène Budzinski pour avoir dirigé ces travaux de thèse. Je tiens à souligner sa disponibilité dans les moments cruciaux, malgré son emploi du temps explosif. Une belle rencontre qui ne peut laisser indifférent.

Merci à Nicolas Mazzella pour avoir dirigé et encadré ces travaux. Quoique « merci » est un peu fade. La richesse et la constance de son soutien depuis mon arrivée dans les murs du labo sont incommensurables. Merci pour ces nombreux échanges scientifiques, ponctués de rires et de bonne humeur. Merci aussi pour sa confiance.

Merci à François Delmas pour les diverses invitations à la pluralité qui donnent de la consistance à l'interprétation de résultats parfois nébuleux.

Je tiens également à remercier Daniel Poulain qui a toujours veillé au bon fonctionnement de l'équipe ; matériellement et humainement.

Par ailleurs, je remercie Valérie Pichon et Serge Chiron d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail. Merci également à Azziz Assoumani et Ian Allan d'avoir examiné ce manuscrit, ainsi qu'à Patrick Mazellier pour avoir présidé le jury lors de la soutenance.

Je souhaite aussi remercier les membres de mon comité de pilotage (Marina Coquery, François Delmas, Jean-Louis Gonzales, Laure Malleret, Valérie Pichon) pour avoir pris le temps de discuter de l'avancement et de la trajectoire de ce travail pendant ces trois années.

J'exprime ensuite ma gratitude envers les organismes qui ont permis le déroulement de ces travaux de thèse en les finançant partiellement : la Région Aquitaine (programme OSQUAR), le FEDER OSQUAR, l'ANR RIPOST, l'ONEMA, AQUAREF.

De manière incontournable, mes pensées se dirigent vers les personnes avec qui j'ai partagé cette aventure quotidienne au sein du laboratoire. Brigitte, Nicolas, Aurélie, Gaëlle, Mélissa, Karine, Harry, Sophie, Trang, Maryse et Muriel : un grand merci pour l'ambiance toujours détendue au labo, les pauses, les coups de main, les journées de manips, les virées sur le terrain... les coups de gueule, les rigolades.

Je remercie aussi toute l'équipe Carma, dite « rouleau compresseur », avec une pensée particulière pour les copains thésards. Merci aussi à l'équipe du LPTC, l'équipe MALY d'Irstea à Lyon, et le LCAE. Parmi eux et de manière non exhaustive : Sozic, Nicolas x 3, Nicoulette, Sandra, Marius, Seb, Cathy, Sylvia, Jan, Vincent B, Angel, Ninette, Fred, Emilie, Juliette, Vincent R, Sandrine, Nina, Julie, Thibaut, Gilles, Azziz, Christelle M, Céline G, Maud, Matthieu S, Pierre Doumenq, Laure Malleret.

Par ailleurs, je tiens à saluer mes acolytes hors Irstea, compagnons et amis de tous les jours, avec qui nous coulons des jours heureux sur les rives de la Garonne et autour de la rade phocéenne (random) : Thibaut, Magalie, Marius (bis), Younès, Maff, Philippe, Soizic (bis), Emilie x 3, Pierre, Alberto, les trois C, Daniel, Elise, Nicoulette (bis), Sam, Emeric, Flo, Charlotte, Flop, Sandra (bis), Nicomaz (bis), Matthieu VdT, Matthieu S, il gruppo 9 (Noemi, Mickael, Stefan, Chris, Carolina, Megan, Marta, Carlos P.), Audrey, Laurence, Nico Pokita, Rachel, Raluca, Timot, Rémi, Laure Marie, Katja, *et al.* Merci aussi à la famille Guerlety, et plus particulièrement à Lino pour ses petits sourires ravageurs. Et merci pour toutes vos petites et grosses attentions le jour de la soutenance.

Un immense merci à ma mère Monique, mon père Bernard, ma sœur Elodie, mon frère Clément ainsi qu'à toute ma famille, pour leur soutien inconditionnel, et sans qui je n'en (ne) serais pas là. Ce travail est une réalisation collective, mûrie au cours des années, qui vous appartient autant qu'à moi. On fait une belle équipe...

Enfin, pour avoir vécu cette expérience avec moi depuis l'aube jusqu'au crépuscule, entre ciel et terre dans la *chourmo* et les paisibles accalmies ; et pour avoir bâti et partagé ces innombrables moments de bonheur ; je souhaite te remercier, Marion, du fond du cœur.

« Qu'importe où nous allons, honnêtement [...]. Ce qui restera est une certaine qualité d'amitié, architecturée par l'estime. Et brodée des quelques rires, des quelques éclats de courage ou de génie qu'on aura su s'offrir les uns aux autres. Pour tout ça, les filles et les gars, je vous dis merci. Merci. » A. Damasio

Résumé

Le Bassin d'Arcachon souffre depuis le début des années 2000 de crises environnementales qui ont engendré la régression de l'herbier de zostères et la mortalité épisodique des naissains d'huîtres. Dès lors, la pression toxique et notamment phytosanitaire a été mise en cause et a fait l'objet de plusieurs suivis environnementaux dans la lagune et ses principaux tributaires depuis 2005. L'étude présentée ici porte sur le suivi des apports en pesticides vers le Bassin d'Arcachon par les eaux continentales. Sa plus-value réside dans l'élargissement du panel de molécules suivies, notamment avec la prise en compte des composés acides ; dans l'utilisation d'échantillonneurs passifs de type POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) ; et dans l'acquisition d'une chronique pendant près de deux ans. Du fait de l'inadéquation du POCIS (et des autres échantillonneurs passifs aquatiques disponibles actuellement), une stratégie d'échantillonnage ponctuel mensuel a été mise en place pour le suivi des herbicides organiques acides. La mise en évidence par la suite de la prédominance de ces substances dans la contamination des tributaires du Bassin d'Arcachon a constitué une avancée majeure dans la caractérisation de la pression toxique du milieu, et a par ailleurs montré les besoins en matière d'échantillonnage passif pour ce type de contaminants. Par conséquent, des outils adaptés à leur échantillonnage ont été développés, en se basant sur des dispositifs préexistants. Le caractère intégratif de l'échantillonneur a été optimisé soit en adaptant la géométrie, soit en modifiant la nature de la phase réceptrice. Ensuite, l'aspect quantitatif des dispositifs a été amélioré en adaptant l'approche PRC (composé de performance et de référence), ou bien en utilisant un gel diffusif.

Mots clés : pesticides, Bassin d'Arcachon, échantillonnage passif, POCIS, DGT

Abstract

Pesticides contamination of the Arcachon Bay tributaries and development of passive sampling devices for acidic herbicides

From the early 2000s, the Arcachon Bay suffers from environmental crises that have led to the decline of the *Zostera* spp. meadows, and to the episodic mortality of oysters spats. Therefore, the toxic pressure (including pesticides) has been questioned, and several environmental monitoring programs have been established since 2005. This new monitoring program consisted to expand the range of monitored compounds (including acidic herbicides), to use POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) for the passive sampling of polar compounds, and to monitor continuously the main Arcachon Bay tributaries for nearly two years. Because of the inadequacy of POCIS (and other devices currently available), a monthly grab sampling strategy has been implemented for the monitoring of acidic herbicides. The highlighting of the predominance of the acidic metabolites of chloroacetanilides in the Arcachon Bay tributaries has been a major advance in the characterization of the toxic pressure, and pointed out, otherwise, the needs for a specific passive sampling tool for these contaminants. Therefore, several passive samplers have been developed, based on existing devices (POCIS and Diffusive Gradient in Thin-film). The integrative behaviour of the samplers has been first optimized by adapting the geometry (exposure surface area, and amount of receiving phase), or by changing the nature of the receiving phase. Then, the quantitative behaviour has been improved by adapting the PRC (performance and reference compound) approach, or using a diffusive gel.

Keywords: pesticides, Arcachon Bay, passive sampling, POCIS, DGT

Sommaire

Introduction

Introduction.....	21
-------------------	----

Chapitre I. Eléments de contexte

1. Contamination des milieux aquatiques par les pesticides	31
2. Source et devenir des pesticides	33
2.1. Sources de contamination.....	33
2.2. Transfert des contaminants	34
2.3. Dégradation.....	37
3. Impact sur le vivant	38
3.1. Modes d'action des pesticides	38
3.2. Impact sur les écosystèmes.....	39
3.3. Impact sur l'homme	41
3.4. Notion de risque.....	41
4. Réglementation	42
4.1. Directive Cadre européenne sur l'Eau.....	42
4.2. Plan Ecophyto 2018.....	43
4.3. REACH.....	44
5. Echantillonnage passif des milieux aquatiques.....	44
5.1. Différents modes d'échantillonnage	44
5.2. Histoire de l'échantillonnage passif	48
5.3. Théorie de l'échantillonnage passif intégratif.....	49
5.4. Polar Organic Chemical Integrative Sampler.....	51
5.5. Diffusive Gradient in Thin-film	52
6. Présentation du site d'étude : le Bassin d'Arcachon.....	53
6.1. Présentation générale	55
6.2. Hydrologie	56
6.3. Occupation du sol, usages et problématique phytosanitaire	57
6.4. Risques socio-environnementaux	59
6.5. A propos des pesticides sélectionnés.....	59

Chapitre II. Développements d'une méthode analytique pour le dosage des herbicides anioniques

1. Avant propos	67
2. Publication "Comparison between classic reversed phase and hydrophilic interactions liquid chromatography for freshwater acidic herbicides analysis"	69
3. Conclusion partielle	87

Chapitre III. Suivi de la contamination en pesticides dans les tributaires du Bassin d'Arcachon

1. Avant propos	93
2. Contamination des tributaires du Bassin d'Arcachon : données 2010-2011	94
2.1. Plan d'échantillonnage	94
2.2. Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS.....	96
2.3. Résultats d'analyse des herbicides et métabolites acides par prélèvements ponctuels	101
2.4. Résultats d'analyse du compartiment sédimentaire	107
2.5. Discussion relative aux apports continentaux en pesticides et hypothèse de transferts...	112
2.6. Aspects écotoxicologiques et impact sur le périphyton benthique	118
2.7. Publication "Assessing the impact of chloroacetanilide herbicides and their metabolites on periphyton in the Leyre River (SW France) <i>via</i> short term growth inhibition tests on autochthonous diatoms"	120
3. Modélisation de la contamination à l'intérieur du Bassin d'Arcachon	139
4. Conclusion partielle	142

Chapitre IV. Développement d'un échantillonneur passif pour les composés organiques acides

1. Avant propos	149
2. Publication "Optimization of Polar organic chemical integrative sampler and Diffusive gradient in thin-film for the sampling of organic acids"	151
3. Publication "Use of mixed mode ion exchange sorbent for the passive sampling of organic acids by polar organic chemical integrative sampler"	169
4. Conclusion partielle	187

Synthèse et perspectives

Synthèse et perspectives.....	189
-------------------------------	-----

Bibliographie

Bibliographie.....	199
--------------------	-----

Annexes

Annexe 1. Préparation et conservation des solutions	225
Annexe 2. Protocole d'extraction en phase solide de 44 pesticides neutres pour analyse LC et GC .	227
Annexe 3. Protocole d'extraction en phase solide de 19 herbicides anioniques dans l'eau pour analyse LC.....	228
Annexe 4. Protocole d'extraction en phase solide du glyphosate et de l'AMPA dans l'eau pour analyse LC.....	229
Annexe 5. Extraction de 44 pesticides neutres dans les sédiments pour analyse LC et GC.....	230
Annexe 6. Analyse de 33 pesticides neutres par RPLC-ESI-MS ²	231
Annexe 7. Analyse de 19 herbicides acides par HILIC-ESI-MS ²	233
Annexe 8. Analyse du glyphosate et de l'AMPA par RPLC-ESI-MS ²	234
Annexe 9. Analyse des composés hydrophobes par GC-MS ²	235
Annexe 10. Dopage de la phase réceptrice avec les composés de performance et de référence choisis (PRC).....	237
Annexe 11. Préparation et récupération des échantillonneurs passifs	238
Annexe 12. Elution de la phase réceptrice des échantillonneurs passifs.....	239
Annexe 13. Principes des Systèmes de calibration	240
Annexe 14. Supporting Informations of "Optimization of Polar organic chemical integrative sampler and Diffusive gradient in thin-film for the sampling of organic acids"	241
Annexe 15. Supporting Informations of "Use of mixed-mode anion exchange sorbent for the passive sampling of organic acids by polar organic chemical integrative sampler"	243
Annexe 16. Contamination de la Craste de Nézer	247
Annexe 17. Contamination du canal des landes	248
Annexe 18. Contamination du ruisseau du Bourg.....	249
Annexe 19. Contamination De la Leyre	250
Annexe 20. Contamination du ruisseau du Pontails	251
Annexe 21. Contamination du Lanton.....	252

Annexe 22. Contamination du Bétey	253
Annexe 23. Contamination du Cirès.....	254
Annexe 24. Contamination du canal des étangs	255
Annexe 25. Valorisations.....	256

Abréviations

Abréviations

Abréviations

αg	coefficient global de transfert de masse
δ	largeur de pic chromatographique à mi-hauteur
Δg	épaisseur du gel de diffusion (DGT)
$\mu P-200$	POCIS ayant une surface d'exposition de 3,14 cm ² et contenant 200 mg de phase
$\mu P-400$	POCIS ayant une surface d'exposition de 3,14 cm ² et contenant 400 mg de phase
A	aire exposée
ACN	acétonitrile
ACP	analyse en composante principale
ADES	accès aux données sur les eaux souterraines
AIA	acide indole 3-acétique
ALS	acétolactate synthétase
AMPA	acide aminométhylphosphonique
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
CA	concentration annuelle
CE	collision energy
CF	facteur de concentration
CMA	concentration maximale admissible
Cmax	concentration de saturation
Cs	concentration dans l'échantillonneur
Cw	concentration dans l'eau
Cw'	concentration dans l'eau à proximité de la phase réceptrice
CXP	cell exit potential
D	coefficient de diffusion
DCE	Directive Cadre européenne sur l'Eau
DCPMU	1-(3,4-dichlorophenyl)-3-méthyl urée
DCPU	1-(3,4-dichlorophenyl)urée
DDT	dichlorodiphényltrichloroéthane
DEA	déséthyl-atrazine
DET	déséthyl-terbuthylazine
DGT	Diffusive Gradient in Thin-film
DGT-HLB	DGT contenant de la phase Oasis HLB
DIA	désisopropyl-atrazine
DOE	Design of experiment (plan d'expérience)
DP	declustering potential
DREAL	Directions Régionales de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement
DVB	divinylbenzène
DW	drinking water
EAF	environmental adjustment factor
EPOC	Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux
ESA	ethansulfonic acid
ESI	électrospray ionisation
F	flux d'analyte entre deux compartiments
F0	fraction de rinçage
FEDER	Fond Européen de Développement Régional
G	facteur de géométrie

Abréviations

GC	chromatographie en phase gazeuse
GF/F	glass fiber filter
HCOOH	acide formique
HEPT	hauteur équivalente à un plateau théorique
HILIC	chromatographie liquide à interactions hydrophiles
HLB	Oasis HLB
HPLC	chromatographie liquide à haute performance
HRX	chromabond Hr-X
IDL	limite de détection instrumentale
IFREMER	Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer
IPPMU	1-(4-isopropylphenyl)-3-méthyl urée
IPPU	1-(4-isopropyl phenyl)urée
IRSTEA	Institut national de Recherche en Sciences et Technologies pour l'Environnement et l'Agriculture
IS	étalon interne
K'	facteur de capacité
KD	coefficient de partage eau-échantillonneur
ke	constante de désorption
KL	constante d'équilibre de sorption
Koc	coefficient de partage eau-carbone
Kow	coefficient de partage octanol-eau
Ksw	coefficient de partage eau-échantillonneur
ku	constante d'accumulation
LC	chromatographie en phase liquide
LDPE	low-density polyethylene
LOQ	limite de quantification
LPTC	Laboratoire de Physico et Toxico Chimie des systèmes naturels
M	masse de phase
MAX	Oasis MAX
MeOH	méthanol
MESCO	membrane-enclosed silicone collector
MOD	matière organique dissoute
Ms	masse de phase
MS ²	spectrométrie de masse en tandem
NQE	norme de qualité environnementale
NVP	N-vinylpyrrolidone
O.D.	outside diameter
OA	oxanilic acid
OSQUAR	ostréculture et qualité du milieu, approche dynamique du Bassin d'Arcachon
P-200	POCIS contenant 200 mg de phase
P-400	POCIS contenant 400 mg de phase
P-600	POCIS contenant 600 mg de phase
PEC	predicted environmental concentration
PES	polyéthersulfone
PICT	Pollution-Induced Community Tolerance
PNEC	predicted non-effect concentration

Abréviations

POC	polar organic compound (composé organique polaire)
POCIS	Polar Organic Chemical Integrative Sampler
POCIS-HLB	POCIS contenant de la phase Oasis HLB
POCIS-HRX	POCIS contenant de la phase Chromabond HRX
POCIS-MAX	POCIS contenant de la phase Oasis MAX
PPCP	produit pharmaceutique et de soin personnel
PRC	composé de référence et de performance
PSDVB	polystyrène-divinylbenzène
REPAR	Réseau Pesticides Arcachon
RPLC	chromatographie liquide en phase inverse
Rs	taux d'échantillonnage
RSD	relative standard deviation
RW	river water
SDAGE	Schéma Directeur d'Aménagement et de Gestion des Eaux
SF	solution fille (1 µg.mL ⁻¹)
SM	solution mère (100 µg.mL ⁻¹)
SOeS	Service de l'Observation et des Statistiques du ministère de l'environnement
SPE	extraction sur phase solide
SPMD	semipermeable membrane device
SR	silicone rubber
SRM	selected raction monitoring
t _{1/2}	limite de linéarité
TEA	triéthylamine
TWA	time-weighted average
UPJ	union pour la protection des jardins et des espaces publics
UPW	eau ultra pure
ZICO	zone importante de conservation des oiseaux
ZNIEFF	zone naturelle d'intérêt écologique faunistique et floristique
ZPS	zone de protection spéciale

Introduction

Introduction

Il y a environ 12 ka, les premiers indices d'aménagement du milieu naturel par l'homme à des fins culturelles annoncent les prémices du Néolithique. Le mode de subsistance fondé sur la cueillette, la chasse et la pêche est alors progressivement abandonné pour des systèmes agropastoraux de plus en plus complexes, qui s'accompagnent d'une sédentarisation massive ainsi que d'une explosion de la démographie. Au cours des siècles qui suivent, le perfectionnement des techniques et la domestication de nouvelles espèces végétales ou animales permettent d'accroître la productivité agricole, et d'atténuer ainsi l'influence des conditions environnementales sur les ressources alimentaires. Au milieu du XIX^{ème} siècle, l'agriculture souffre d'un « manque de bras » qui favorise l'émergence de la mécanisation et de la protection chimique des cultures. Celle-ci est tout d'abord assurée par l'épandage de substances inorganiques (soufre, sulfate de cuivre), jusqu'à l'apparition des premiers composés organiques de synthèse à effet insecticide comme le DDT en 1939, ou herbicide comme le 2,4-D en 1946. Dès lors s'amorce une métamorphose des pratiques agricoles qui aboutit au système dit conventionnel que nous connaissons aujourd'hui, fondé sur l'utilisation de produits phytosanitaires. La contribution indéniable de ces substances à l'augmentation des rendements et à la régularité des productions est toutefois contrariée par plusieurs faiblesses. En effet, une synthèse produite par l'INRA (Aubertot *et al.*, 2005) montre que la conjugaison de divers facteurs remet en question la viabilité du système de protection des cultures basé sur l'utilisation de produits phytosanitaires. L'acquisition de résistance des ravageurs (Elzen et Hardee, 2003; Vaughn, 2003), l'interdiction de plusieurs substances actives, la mise en évidence d'une contamination généralisée des masses d'eau (Readman *et al.*, 1993; Kennedy *et al.*, 2012) et des effets toxiques avérés pour l'homme (Tron *et al.*, 2001; Meeker *et al.*, 2006) et son environnement (Henry *et al.*, 2012; Ochoa *et al.*, 2012) y sont notamment mentionnés comme les principales limitations. Cependant, une diminution de la consommation en pesticides va à l'encontre de la rationalité économique actuelle, qui par ailleurs n'intègre pas les coûts environnementaux et sanitaires induits par leur utilisation. Par conséquent, des politiques volontaristes se sont mises en place (Directive Cadre Européenne sur l'Eau, plan national Ecophyto), et nécessitent un appui scientifique de manière à caractériser au mieux le risque en étudiant l'exposition des biotopes et de l'homme, ainsi que la dangerosité des substances d'intérêt.

Le suivi de la contamination en pesticides des différentes masses d'eau (eaux de surface, eaux souterraines, eaux littorales), réceptacles ultimes des substances épandues, constitue donc un enjeu de taille pour la caractérisation de l'exposition. Toutefois, les suivis environnementaux pratiqués actuellement par les réseaux de surveillance sont basés sur l'analyse d'échantillons ponctuels prélevés à des fréquences trimestrielles généralement, et sont par conséquent peu représentatifs des fluctuations réelles de la contamination. L'échantillonnage ponctuel à haute fréquence (hebdomadaire par exemple) constituerait une alternative de choix du point de vue de la représentativité de l'information, mais des contraintes de coût évidentes (multiplication des échantillons, logistique complexe, etc.) empêchent sa généralisation. Ainsi, les innombrables avantages de l'échantillonnage passif (réduction drastique des limites de quantification grâce au fort potentiel de préconcentration des contaminants *in situ*, intégration de tous les épisodes de contamination, proxy de la bioaccumulation, facilité d'utilisation, surcoût acceptable par rapport à un prélèvement ponctuel, etc.) ont naturellement conduit à un développement intense de cette technique au cours des 20 dernières années. Parmi ces développements, de nombreux travaux traitent de l'échantillonnage passif des composés organiques polaires (Kingston *et al.*, 2000; Alvarez *et al.*, 2004) pour répondre à la problématique des pesticides et, par ailleurs, des contaminations liées aux résidus de médicaments. Ces polluants, pour la plupart qualifiés d'émergents (Daughton, 2004), sont généralement hydrophiles et font l'objet d'un intérêt croissant. Parmi eux, les acides organiques sont largement représentés dans les différentes classes de contaminants, et plus particulièrement dans la catégorie des pesticides. En effet, les herbicides acides (e.g. sulphonylurées, tricétones) sont abondamment employés pour des usages agricoles et non agricoles en raison de leur coût relativement faible et de leur efficacité à faible dose. De plus, les métabolites acides (principaux produits de dégradation) des chloroacétanilides sont de plus en plus surveillés, et souvent quantifiés à des concentrations plus élevées que celles des molécules mères (Postle *et al.*, 2004; Hladik *et al.*, 2005). Cependant, en dépit de l'importance de ces substances acides, leur analyse dans des matrices aqueuses naturelles présente encore des difficultés techniques (Carabias-Martinez *et al.*, 2004; Tran *et al.*, 2007), et leur échantillonnage passif est toujours mal maîtrisé (Mazzella *et al.*, 2007; Harman *et al.*, 2011a; Kaserzon *et al.*, 2012).

Ces travaux de thèse visent donc à développer des outils d'échantillonnage et d'analyse des herbicides et métabolites acides dans les eaux de surface ; et s'inscrivent dans le projet régional OSQUAR (Ostréculture et qualité du milieu, approche dynamique du Bassin d'Arcachon, 2009-2012). Ce programme de recherche vise à engager une étude pluridisciplinaire intégrée autour du Bassin d'Arcachon en prenant pour point de départ la relation dynamique entre la qualité du milieu et les activités anthropiques (ostréculture, agriculture et tourisme par exemple). En effet, les différentes crises environnementales observées (crise ostréicole et régression de l'herbier de zostères) interrogent la responsabilité des contaminants dans l'érosion de la richesse patrimoniale de ce milieu (De Wit *et al.*, 2005; Auby *et al.*, 2007; Plus *et al.*, 2010). La contribution des travaux relatés dans ce manuscrit intervient plus particulièrement dans le suivi et la caractérisation de la contamination en pesticides des tributaires du Bassin d'Arcachon.

Le premier chapitre apporte tout d'abord les éléments de contexte primordiaux pour faciliter la discussion qui s'ensuit. Les sources et devenir des pesticides ainsi que leur toxicité y sont abordés, suivis des points réglementaires clés, des différentes méthodes d'échantillonnage, et d'une présentation générale du Bassin d'Arcachon.

Le deuxième chapitre traite la mise au point préalable et nécessaire d'une méthode analytique pour le dosage des herbicides acides dans les eaux de surface, en vue d'une application sur le terrain d'étude. Le développement des étapes de purification/préconcentration et d'analyse est d'abord discuté, puis les performances de la méthode optimisée font l'objet d'une validation d'après les recommandations de la norme NF T90-210.

Le troisième chapitre dresse un bilan du suivi bisannuel de la contamination en pesticides (dont les herbicides acides) des principaux tributaires du Bassin d'Arcachon, effectué entre mars 2010 et décembre 2011. Les apports continentaux de pesticides vers la lagune sont discutés, et des résultats issus de collaborations pluridisciplinaires sont présentés. Ces derniers ont permis d'alimenter des ouvertures sur l'écotoxicologie et la modélisation de la contamination à l'intérieur du Bassin d'Arcachon.

Enfin, un quatrième chapitre rapporte les différents développements effectués en laboratoire concernant l'échantillonnage passif des herbicides anioniques. Ces travaux sont

Introduction

articulés autour de l'étude de l'influence de la géométrie de l'échantillonneur et de la nature de sa phase réceptrice sur les paramètres d'accumulation.

Chapitre I. Éléments de contexte

Liste des tableaux

Tableau 1. Liste des molécules les plus utilisées pour les usages agricoles et non agricoles sur le bassin versant du Bassin d’Arcachon. Quantités annuelles appliquées entre parenthèses. D’après le rapport « Les pratiques phytosanitaires sur le Bassin d’Arcachon » (Dagens, 2012)	58
Tableau 2. Liste et propriétés des pesticides étudiés. Molécules acides d’intérêt surlignées en bleu. Données issues de l’Ineris, de l’University of Hertfordshire et de l’ANSES. CA, concentration annuelle ; CMA, concentration maximale admissible.....	61

Liste des figures

Figure 1. Fréquence de quantification des principaux pesticides dans les cours d’eau en France métropolitaine en 2010 (SOeS, 2011).	32
Figure 2. Fréquence de quantification des principaux pesticides dans les eaux souterraines en France métropolitaine en 2010 (SOeS, 2011).	32
Figure 3. Evolution de la consommation en produits phytosanitaires ou biocides en France (UIPP). .	34
Figure 4. Devenir des pesticides dans l’environnement (Lissalde, 2010).	35
Figure 5. Districts hydrographiques français pour la mise en place de la Directive Cadre sur l’Eau. ...	42
Figure 6. Illustration de la mise en œuvre sur le terrain de l’échantillonnage ponctuel (à gauche) et passif (à droite).....	45
Figure 7. Représentativité temporelle des échantillonnages ponctuels et intégratifs.	46
Figure 8. Schéma des trois types de contrôle impliqués dans le cadre de la Directive Cadre européenne sur l’Eau (DCE). L’utilisation possible d’échantillonneurs passifs est représentée par les étoiles. D’après Allan <i>et al.</i> (2006).	47
Figure 9. Domaine d’application des principaux échantillonneurs passifs (en bleu) et gamme de polarité de quelques familles de contaminants organiques (en gris). Applicabilité du Diffusive Gradient in Thin-film (DGT) spécifiée pour les composés inorganiques.....	48
Figure 10. Accumulation des contaminants dans un échantillonneur passif (d’après Vrana <i>et al.</i> 2005).	49
Figure 11. Différents compartiments entre le milieu à échantillonner et la phase réceptrice d’un échantillonneur passif. La concentration en contaminants est représentée en turquoise (d’après Seethapathy <i>et al.</i> , 2008; Lissalde, 2010).....	50
Figure 12. Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS).....	51
Figure 13. Diffusive Gradient in Thin-film (DGT).	53
Figure 14. Localisation du Bassin d’Arcachon (44°40 N et 1°10 O). Source Géoportail.....	54
Figure 15. Evolution géomorphologique du Bassin d’Arcachon, d’après Froidefond (1982).	55

Cette présentation générale vise à donner des éléments de contexte afin d'appréhender au mieux la suite du document. Ce travail de thèse repose sur trois grandes thématiques : les produits phytosanitaires, les techniques d'échantillonnage et la problématique environnementale du Bassin d'Arcachon. Tout d'abord, nous avons choisi de mettre en avant les avancées scientifiques récentes ainsi que les faits marquants concernant la thématique pesticides dans les domaines de la contamination environnementale, de l'impact sur le vivant, et des aspects réglementaires associés. L'importance de l'étape d'échantillonnage est ensuite abordée en comparant les différentes techniques existantes. L'échantillonnage passif est détaillé plus spécifiquement et ses principaux atouts y sont illustrés. Enfin, les caractéristiques générales de l'environnement du Bassin d'Arcachon sont présentées brièvement, suivies de quelques éléments concernant les molécules sélectionnées pour l'ensemble des travaux présentés dans les chapitres suivants.

1. CONTAMINATION DES MILIEUX AQUATIQUES PAR LES PESTICIDES

Après la Seconde Guerre Mondiale, l'avènement de l'utilisation des pesticides dans l'agriculture dite conventionnelle a provoqué, outre la transformation de l'agriculture en gestion des pathologies végétales, une contamination massive des hydrosystèmes à l'échelle mondiale. L'observation de ces contaminations dans l'environnement a commencé dès la fin des années 1950 avec le développement de techniques analytiques (chromatographie d'absorption et spectrophotométrie infra rouge par exemple) capables de mesurer les pesticides à des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Rosen et Middleton, 1959). Quelques années plus tard sont apparus les premiers écrits subversifs, critiques politico-sociales et scientifiques, dont le fameux « Printemps Silencieux » de Rachel Carson (1962) qui a provoqué l'émergence du mouvement écologiste aux Etats-Unis et a causé l'interdiction du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) dix ans plus tard.

Aujourd'hui, des contaminations ont été mises en évidence dans les masses d'eau des cinq continents, de l'embouchure du Nil (El-Kabbany *et al.*, 2000) à la grande barrière de Corail (Kennedy *et al.*, 2012), et du nord de l'Inde (Sankararamakrishnan *et al.*, 2005) au sud du Chili (Palma *et al.*, 2004). Toutes les masses d'eau sont concernées, qu'elles soient de surface (Readman *et al.*, 1993; Zhou *et al.*, 1999), souterraines (Boyd, 2000; Carabias-Martinez *et al.*, 2002) ou littorales (Munaron *et al.*, 2012). Isaksson *et al.* (2003) ont

également rapporté des contaminations des calottes glacières de l'archipel de Svalbard au nord de la Norvège, illustrant la mobilité et la persistance de certains composés. La multiplicité des usages accentue également le caractère ubiquiste de la contamination, avec notamment l'émergence des usages urbains (Wittmer *et al.*, 2010), et non agricoles de manière plus générale (entretien de la voirie, entretien des axes ferroviaires, jardinage).

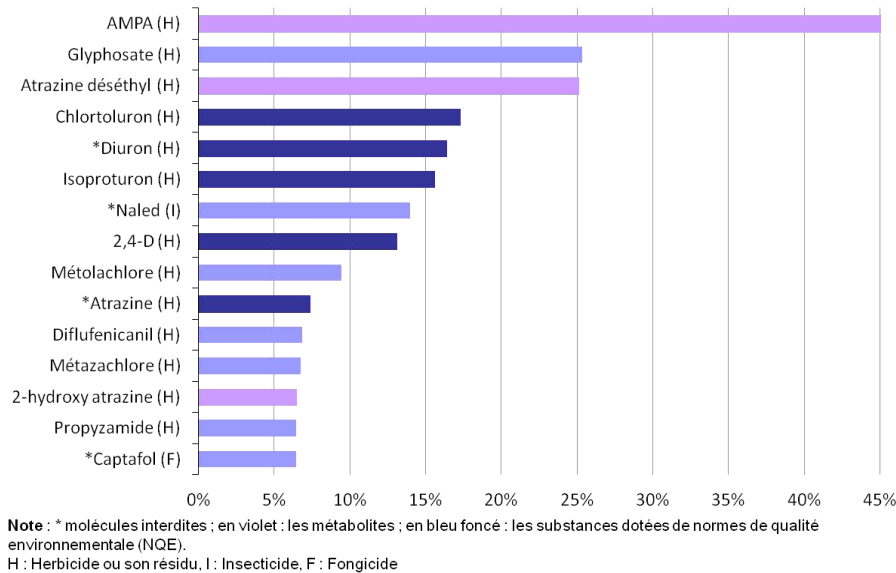


Figure 1. Fréquence de quantification des principaux pesticides dans les cours d'eau en France métropolitaine en 2010 (SOeS, 2011).

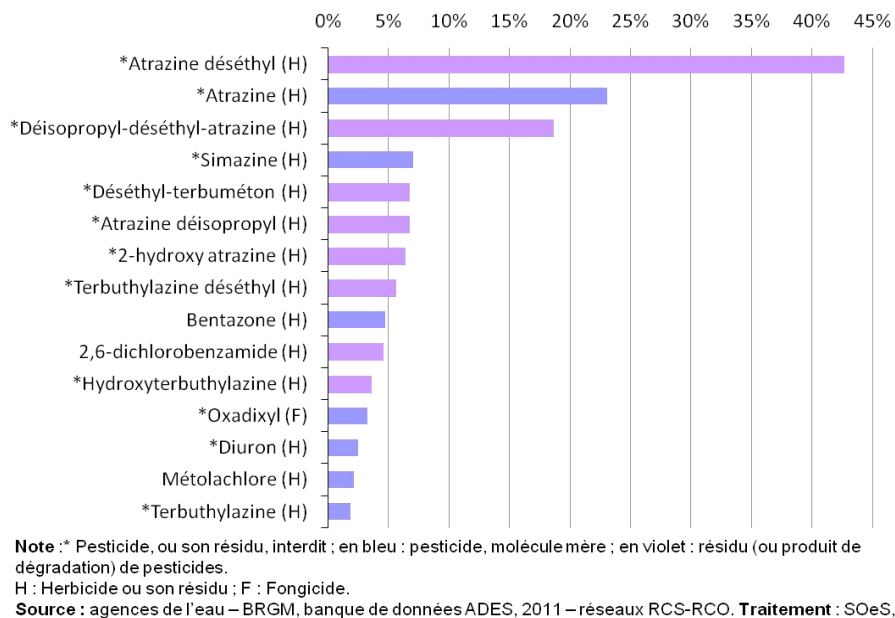


Figure 2. Fréquence de quantification des principaux pesticides dans les eaux souterraines en France métropolitaine en 2010 (SOeS, 2011).

La France, troisième pays consommateur de produits phytosanitaires mondial et premier européen, n'échappe évidemment pas à ces tendances. En effet, les rapports du Service de l'Observation et des Statistiques (SOeS, anciennement IFEN) du Ministère de l'Ecologie, du Développement durable et de l'Energie montrent une pollution quasi générale des eaux de surface. En effet, entre 2007 et 2009, on retrouve au moins une fois une molécule dans 91 % des points de prélèvement « cours d'eau » et dans 63 % des points de prélèvement « eau souterraine » (SOeS, 2011). Ces analyses prennent en compte un total d'environ 500 pesticides. Les 15 molécules les plus quantifiées dans les cours d'eau sont majoritairement des molécules mères à effet herbicide, alors que les eaux souterraines reçoivent principalement des produits de dégradation (Figure 1, Figure 2).

2. SOURCE ET DEVENIR DES PESTICIDES

2.1. Sources de contamination

D'après l'union des entreprises pour la protection des jardins et des espaces publics (UPJ), environ 95 % de la consommation française en pesticides (Figure 3) sont dévolus à des usages agricoles. Les 5 % restants se partagent entre l'entretien des espaces publics et de la voirie, le jardinage et les campagnes de luttés contre les insectes nuisibles (usages non agricoles). La part minime de la consommation de produits phytosanitaires attribuée aux usages non agricoles peut engendrer, du fait des taux de transfert plus élevés (surface urbaines imperméabilisées, transfert direct vers les eaux de surface, faible dégradation biologique), jusqu'à 50 % de la contamination aquatique en pesticides. Par exemple, Blanchoud *et al.* (2007) ont montré que les usages non agricoles sur le bassin versant de la Marne participent autant que les usages agricoles à la contamination de la rivière en pesticides, malgré des quantités appliquées cent fois moindres.

Parmi les sources de pollution, on distingue les contaminations ponctuelles et les contaminations diffuses. Les contaminations ponctuelles sont souvent accidentelles ou dues au non respect des « bonnes pratiques phytosanitaires ». Ces rejets peuvent parfois être chroniques (par exemple rejet dans l'environnement des eaux de rinçage du matériel d'épandage), mais demeurent de plus en plus rares et localisés grâce à l'émergence des circuits de récupération des résidus de pesticides (recyclage, récupération des eaux de lavage souillées, etc.). Les contaminations diffuses sont quant à elles à l'origine de la

pollution généralisée des eaux de surface. Elles sont attribuées le plus souvent aux pertes à l'épandage, puisque l'on considère que seulement 25 à 80 % des substances actives parviennent jusqu'à leur cible (Aubertot *et al.*, 2005).

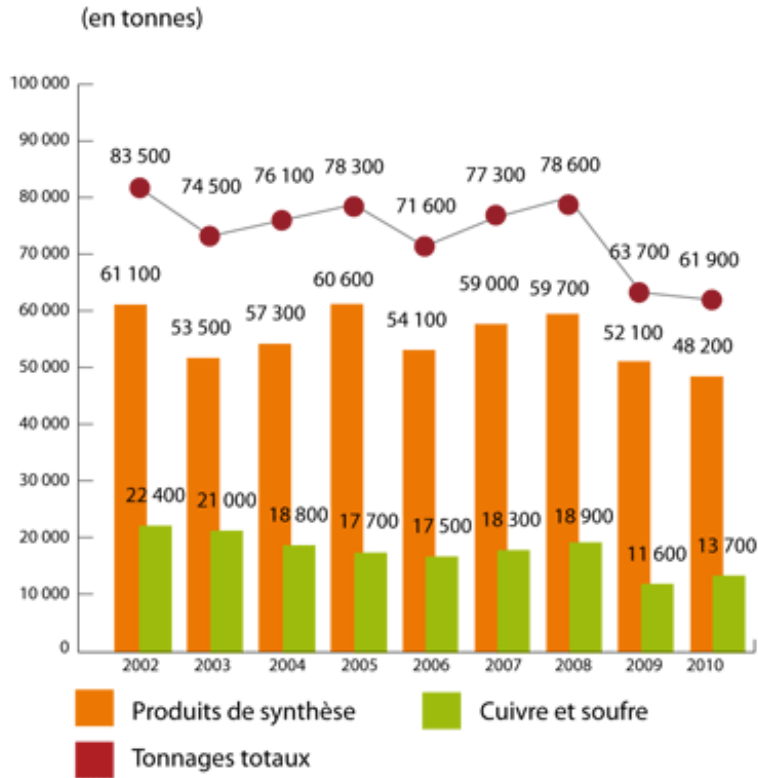


Figure 3. Evolution de la consommation en produits phytosanitaires ou biocides en France (UIPP).

2.2. Transfert des contaminants

Trois grands processus de dispersion dans l'environnement (Figure 4) sont communément admis : la volatilisation, le ruissellement et le lessivage des sols ou infiltration. Les pesticides peuvent rejoindre le compartiment atmosphérique soit directement lors de l'épandage (application par pulvérisation qui facilite la volatilisation ; Watanabe, 1998), soit après application sous forme adsorbée (adsorption des pesticides sur les particules puis érosion éolienne du sol ; Klöppel et Kördel, 1997) ou bien sous forme dissoute (vaporisation directe ou *via* l'évaporation de l'eau depuis le sol vers l'atmosphère ; Cherif et Wortham, 1997). La prévalence de l'un ou l'autre de ces mécanismes sera déterminée sélectivement par 1) la structure chimique de la substance active, 2) les caractéristiques du sol et 3) par les conditions météorologiques. Une fois arrivés dans

l'atmosphère, les polluants peuvent être entraînés par les précipitations (Rouvalis *et al.*, 2009) et redéposés au sol ou dans les eaux de surface.



Figure 4. Devenir des pesticides dans l'environnement (Lissalde, 2010).

Le ruissellement, ou écoulement de surface, dépend à la fois de l'intensité des précipitations et de la capacité d'infiltration du sol. Ce phénomène peut participer à hauteur de 90 % à l'exportation totale de pesticides consécutive à un traitement si les précipitations surviennent peu de temps après l'arrivée du produit au sol. En effet, ce laps de temps est décisif du fait qu'il conditionne d'une part le taux de dégradation des molécules et d'autre part leur capacité d'adsorption dans le sol par différents types d'interactions (van der Waals, coulombiennes, liaisons hydrogène). Cette capacité d'adsorption, reflet de la mobilité des composés dans l'environnement lors d'épisodes pluvieux, est habituellement caractérisée par le coefficient de partage eau-carbone organique (K_{oc}), défini comme le ratio de la constante de partage sol-eau et de la teneur du sol en matière organique. Effectivement, l'adsorption des pesticides s'est révélée être plus dépendante de la teneur en matière organique (composés humiques principalement) que de la nature du substrat (Barriuso *et*

al., 1996). Par ailleurs, lors de fortes précipitations, l'érosion du sol peut apporter une contribution majeure au transfert des molécules les moins solubles vers les eaux de surface sous forme adsorbées, et impliquer de fortes teneurs dans la fraction particulaire des hydrosystèmes exutoires.

La dispersion des contaminants peut également se faire par infiltration à travers le sol. Les composés se dissolvent alors dans l'eau issue des précipitations puis percolent et/ou diffusent verticalement dans le sol. On différencie les phénomènes de percolation et de diffusion par l'échelle temporelle à laquelle opèrent chacun des processus. Le premier consiste en un écoulement gravitationnel rapide vers les nappes souterraines à travers les macropores ou les fissures, et le deuxième, plus lent, est basé sur des phénomènes de diffusion chimique des contaminants dans la fraction immobilisée de l'eau présente dans le sol. Plusieurs paramètres conditionnent l'ampleur de l'infiltration : porosité, perméabilité, teneur en eau, et pH du sol. L'arrivée des polluants dans les nappes est par conséquent fortement soumise à l'intensité du processus d'infiltration, mais dépend également du taux d'adsorption des molécules (affinité des composés avec la matrice solide), de la profondeur de l'aquifère, ainsi que de la rapidité de dégradation.

Plusieurs études mettent en évidence des contaminations du milieu marin littoral par les pesticides (Auby *et al.*, 2007; Comoretto *et al.*, 2007; Kennedy *et al.*, 2012; Munaron *et al.*, 2012). Bien qu'il existe ponctuellement des usages de pesticides spécifiquement « marins » (Carro *et al.*, 2012), la majorité des apports arrivent par les fleuves et sont par conséquent attribuables à des usages continentaux. En effet, dans la plupart des cas, les résidus de pesticides issus d'usages agricoles ou non agricoles terminent leur trajet dans les eaux marines (Pérez-Carrera *et al.*, 2007). Un grand nombre d'études se concentrent sur les contaminations du milieu marin par les pesticides hydrophobes (Kelly *et al.*, 1993; Basheer *et al.*, 2002; Sapota, 2004; Lin *et al.*, 2012), alors que les composés plus hydrophiles dits émergents ne sont étudiés que depuis très récemment (Comoretto *et al.*, 2007; Shaw *et al.*, 2009b; Kennedy *et al.*, 2012; Munaron *et al.*, 2012), grâce à l'apparition de techniques analytiques plus performantes, à même de pallier les facteurs de dilution généralement très élevés dans ce type de milieux (limite de détection de l'ordre du ng.L^{-1} voire inférieure). Dans un article récent, Munaron *et al.* (2012) font état d'une contamination en herbicides maximale dans les milieux lagunaires ou semi-fermés du littoral méditerranéen français

(étang de Thau, étang de Berre, baie du Lazaret). Ainsi, ces zones d'interface (comme le Bassin d'Arcachon) sont sujettes à recevoir une pression phytosanitaire plus élevée que les milieux littoraux côtiers.

2.3. Dégradation

Comme l'illustrent les Figure 1 et Figure 2, les produits de dégradation comme l'AMPA ou l'atrazine déséthyl sont plus représentés dans les eaux souterraines que dans les eaux de surface. Cette surreprésentation est expliquée par l'importance des phénomènes de dégradation lors de l'infiltration. Le processus global de dégradation des molécules peut être attribué à des mécanismes biologiques ou bien abiotiques (Bending *et al.*, 2006). Ces derniers regroupent principalement l'hydrolyse, les réactions d'oxydoréduction et la photodégradation. Du fait de sa lenteur, l'hydrolyse reste marginale (El-Dib et Aly, 1976), à l'inverse de la photodégradation (absorption des rayonnements UV et visibles par les chromophores impliquant la lyse moléculaire) qui peut avoir un rôle majeur dans la transformation des molécules dans la couche superficielle des masses d'eau (Peñuela et Barceló, 2000; Al Housari *et al.*, 2011). Par ailleurs, la dégradation biologique permet d'atteindre des niveaux de dégradation supérieurs à ceux obtenus par des processus abiotiques (Levanon, 1993) selon les conditions (oxiques ou anoxiques, présence de nutriments, d'éléments réducteurs, etc.). Ces processus biologiques interviennent principalement dans la couche arable du sol, où résident une grande diversité et une grande abondance de microorganismes (actinomycètes, bactéries, champignons). Les actions successives et complémentaires d'enzymes à faible spécificité synthétisées par l'ensemble de la communauté microbienne peuvent conduire *in fine* à la minéralisation complète des substances (Grébil *et al.*, 2001). La persistance des contaminants dans l'environnement est donc corrélée à la sensibilité des substances à ces processus de dégradation. Il est à noter que les produits de dégradation ou métabolites font toutefois l'objet d'un intérêt croissant tant on les retrouve à la fois dans les eaux souterraines et dans les eaux de surface à des concentrations excédant parfois celles des molécules mères (Postle *et al.*, 2004; Hladik *et al.*, 2005).

3. IMPACT SUR LE VIVANT

3.1. Modes d'action des pesticides

Les produits phytosanitaires sont conçus pour avoir un effet toxique sur des organismes vivants cibles. Ainsi, dans la liste des biocides on relèvera principalement trois grandes familles : les insecticides, les fongicides et les herbicides. Les insecticides peuvent avoir une action sur le système nerveux (neurotransmission), la respiration ou sur la mue. Les fongicides agissent sélectivement sur la respiration, la biosynthèse (stéroïdes, ARN, mélanine), la croissance ou la perméabilité cellulaire. Enfin les herbicides peuvent avoir un effet perturbateur sur la photosynthèse (photosystèmes I et II), sur la synthèse des lipides et des acides aminés, sur la division cellulaire ou sur la croissance. Les substances actives interviennent donc sur des processus métaboliques fondamentaux, et leur potentiel toxique est donc effectif à la fois sur les espèces ciblées et sur les autres espèces présentes dans les écosystèmes contaminés par leur transfert. Parmi les familles de pesticides les plus représentées, on retrouve :

- Les organophosphorés (chlorpyrifos, malathion) qui ont un effet insecticide par blocage de l'acétylcholinestérase (perturbation de la transmission des impulsions nerveuses).
- Les organochlorés (DDT, chlordécone, lindane), insecticides agissant sur le système nerveux par perturbation des impulsions nerveuses au niveau des synapses. Ces composés sont aujourd'hui tous interdits en France mais sont très persistants dans l'environnement (problématique de la chlordécone aux Antilles par exemple).
- Les carbamates (alcarbe, carbofuran), qui agissent sur le système nerveux de la même manière que les organophosphorés.
- Les triazines (atrazine, simazine), dotées d'un effet herbicide par inhibition du photosystème II (blocage du transport d'électrons et de l'énergie lumineuse).
- Les phénylurées (diuron, isoproturon), qui ont un mode d'action comparable à celui des triazines.
- Les chloroacétanilides (métolachlore, acétochlore), qui agissent sur les végétaux en inhibant les élongases, enzymes intervenant dans la synthèse lipidique (acides gras à longue chaîne).

- Les aryloxyacides (2,4 D, mécoprop, dichlorprop) qui perturbent la régulation de l'auxine AIA (acide indole 3-acétique), phytohormone indispensable à la croissance végétale.
- Les sulfonylurées (chlorsulfuron, nicosulfuron) qui agissent sur la synthèse des acides aminés ramifiés (valine, leucine, isoleucine) *via* l'inhibition de l'acétolactate synthétase (ALS).

3.2. Impact sur les écosystèmes

Un produit phytosanitaire commercial est constitué d'une ou plusieurs substances actives (molécules recherchées dans l'environnement), d'adjuvants pour faciliter ou accélérer l'action toxique des substances actives sur les organismes ciblés (parasites, champignons etc.), et d'un diluant généralement inerte. Une fois dans l'environnement les substances actives seront dissociées des adjuvants, et auront par conséquent un effet toxique parfois moindre par rapport au produit en formulation commerciale (Lipok *et al.*, 2010). Cependant, bien qu'atténuée, la fonction toxique demeure et provoque des effets indésirables sur les écosystèmes. Plusieurs études ont mis en évidence des toxicités sur la faune et sur la flore. Les oiseaux peuvent être exposés directement *via* l'ingurgitation de semences (Prosser et Hart, 2005), ou bien soumis à une réduction des ressources alimentaires (Wilson *et al.*, 1999) ; les chauves souris et les rongeurs sont exposés à des contaminations directes (Brakes et Smith, 2005), les amphibiens subissent de manière indirecte la présence d'herbicides par perte d'habitat (Beasley *et al.*, 2002), les insectes sont sujets à de fortes régressions en nombre d'espèces et en nombre d'individus (Moreby et Southway, 1999), et la flore naturelle subit directement l'impact des herbicides (Fletcher *et al.*, 1993).

Le déclin massif des populations d'abeilles, connu sous le nom de syndrome d'effondrement, reste pour l'heure inexplicé (Dainat *et al.*, 2012). Néanmoins, parmi les causes hypothétiques évoquées dans la littérature scientifique, on retrouve le plus souvent des facteurs comme la perte de diversité au sein des populations, la gestion industrielle agressive des cheptels, ou la pression virale et la pression phytosanitaire (vanEngelsdorp et Meixner, 2010). Les molécules insecticides, longtemps dénoncées par le milieu apicole comme responsables de la disparition des abeilles (exemple du Gaucho au milieu des années 1990 et du Regent au début des années 2000), sont aujourd'hui de plus en plus considérées

dans le milieu scientifique, et des études démontrent clairement l'effet délétère des néonicotinoïdes (imidacloprid, thiamethoxam, clothianidine) sur les abeilles (Boncristiani *et al.*, 2012; Cresswell *et al.*, 2012; Henry *et al.*, 2012). Si la corrélation directe entre la présence de pesticides (classe des néonicotinoïdes) et le syndrome d'effondrement dans sa globalité n'est pas avérée, la responsabilité des molécules insecticides est mise en cause au moins partiellement, considérant la synergie des pressions virales et phytosanitaires. Parallèlement au débat scientifique, les prises de position politiques s'accroissent avec notamment la récente interdiction du « Cruiser » (dont la substance active est le thiamethoxam) pour les semences de colza au mois de juillet 2012 (Arrêté du 24 juillet, 2012). L'exemple du déclin massif des populations d'abeilles parachève donc la mise en lumière de l'impact à grande échelle des pesticides ainsi que la difficulté à anticiper leurs conséquences réelles à moyen terme.

Dans les cours d'eau, les biofilms qui se forment sur les substrats immergés peuvent également être affectés par des contaminations en pesticides. Ces biofilms de rivière, en grande partie constitués d'algues et notamment de diatomées (algues brunes microscopiques unicellulaires dotées d'un exosquelette siliceux), peuvent donc subir des impacts physiologiques structurels, tant au niveau individuel qu'à l'échelle de la communauté (Dorigo *et al.*, 2007; Duong *et al.*, 2008; Morin *et al.*, 2010). La composition spécifique de ces communautés est par ailleurs utilisée comme indicateur de qualité globale des eaux (Coste *et al.*, 2009). Le biofilm peut aussi être employé dans des tests de toxicité aiguë ou bien des tests écotoxicologiques basés sur ses réponses structurelles et/ou fonctionnelles à une exposition chronique (Pesce *et al.*, 2011; Morin *et al.*, 2012b; Roubex *et al.*, 2012) à partir de l'étude de différents descripteurs (étude des communautés, déformation des individus, mesure de la concentration en chlorophylle et activité photosynthétique, etc.).

Le biote des zones lagunaires et littorales peut également être soumis à la pression phytosanitaire. Par exemple, les épisodes de mortalité d'huître généralisés dans ce type d'environnement amènent à suspecter tous les types de forçages, dont la présence de produits phytosanitaires. Plusieurs travaux démontrent la toxicité spécifique de la classe de contaminants « pesticides » sur ces organismes (Han *et al.*, 2000; Gagnaire *et al.*, 2007;

Akcha *et al.*, 2012; Ochoa *et al.*, 2012). Toutefois, l'origine de ces épisodes de mortalité semble être multifactorielle (climatologie, physiologie, pathologies, apports trophiques, apports de toxiques, etc.; Alzieu, 2001; Soletchnik *et al.*, 2007; Tortajada *et al.*, 2012).

3.3. Impact sur l'homme

Parallèlement aux risques environnementaux existent des risques sanitaires. En effet, le nombre de maladies professionnelles listées par la MSA (Mutualité Sociale Agricole) qui sont liées à l'utilisation de pesticides ne cesse de croître depuis une vingtaine d'années (leucémie et lymphomes par exemple). Les produits phytosanitaires ont donc des propriétés toxiques avérées sur l'homme (Tron *et al.*, 2001; Meeker *et al.*, 2006). Ils peuvent être à l'origine d'intoxications aiguës provoquant des maux de tête, des irritations cutanées, des troubles visuels, des nausées ; ou de pathologies chroniques comme des maladies respiratoires (asthme), des cancers (système urogénital, thyroïde, cerveau, leucémie, pancréas), la maladie de Parkinson, des troubles cardiaques... Certains événements récents vont dans le sens de la reconnaissance de ces maladies, comme la prise en compte de la maladie de Parkinson en tant que maladie professionnelle (Décret n°2012-665, 2012) ; ou bien le jugement du 13 février 2012 rendu par le tribunal de grande instance de Lyon qui reconnaît la firme agroalimentaire Monsanto responsable du décès de Yannick Chenet, viticulteur atteint d'une leucémie.

3.4. Notion de risque

Le système actuel d'évaluation du risque environnemental est basé sur la comparaison de la concentration individuelle de chaque molécule relevée ou anticipée dans le milieu (Predicted Environmental Concentration : PEC) avec la concentration environnementale sans effet, évaluée au préalable en laboratoire (Predicted No Effect Concentration : PNEC). Si le rapport PEC/PNEC est inférieur à 1, alors le risque est considéré comme acceptable. Malgré sa simplicité de mise en œuvre et sa large utilisation, plusieurs limitations rendent ce référentiel imparfait. D'une part les concentrations mesurées dans l'environnement sont soumises à une représentativité temporelle et géographique limitée (stratégie d'échantillonnage par prélèvements ponctuels limitée en fréquence et en nombre de stations), et d'autre part les seuils normatifs reflètent la toxicité aiguë d'une molécule unique sur une espèce donnée. On est donc loin de la complexité des mécanismes mis en jeu

dans un environnement réel, où le biote est soumis à des expositions chroniques à plusieurs substances issues de différentes classes de contaminants, à des niveaux potentiellement inférieurs aux limites de détection analytiques. A l'heure où l'écotoxicité des « cocktails » de contaminants (Silva *et al.*, 2002) et la représentativité de l'échantillonnage sont encore difficilement évalués (Backhaus *et al.*, 2003; Faust *et al.*, 2003), il est illusoire d'envisager une métamorphose à court terme de l'évaluation du risque environnemental. Toutefois, il ne fait aucun doute que l'écotoxicologie, et notamment l'évaluation des risques associés aux mélanges de contaminants, trouvera des réponses dans des approches plus transversales, en particulier *via* le couplage entre des extraits d'échantillonneurs passifs et des bio-essais (Escher *et al.*, 2006; Shaw *et al.*, 2009b; Vermeirssen *et al.*, 2009; Pesce *et al.*, 2011; Morin *et al.*, 2012b).

4. REGLEMENTATION

4.1. Directive Cadre européenne sur l'Eau

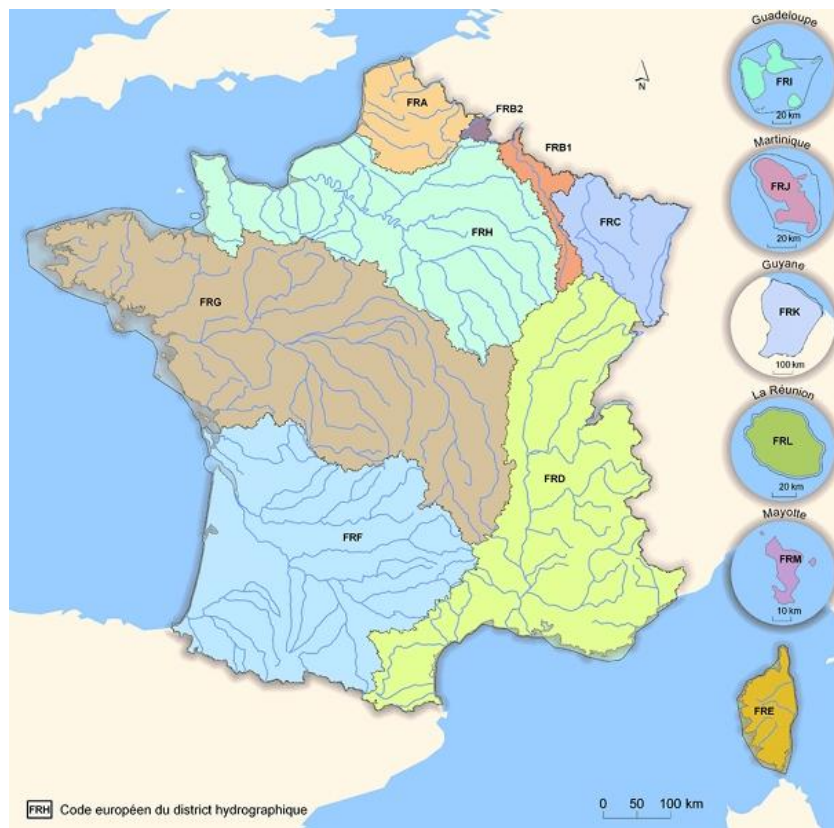


Figure 5. Districts hydrographiques français pour la mise en place de la Directive Cadre sur l'Eau.

La Directive Cadre européenne sur l'Eau ou DCE (2000/60/EC, 2000) fixe un cadre pour la gestion communautaire des masses d'eau de surface, souterraines et littorales depuis le 23 octobre 2000. Elle vise à atteindre un « bon état » écologique et chimique des masses d'eau avant 2015 dans chacun des districts hydrologiques prédéterminés (Figure 5), en impliquant la participation des citoyens et en considérant les contraintes socio-économiques de chaque région.

Les SDAGE (Schémas Directeurs d'Aménagement et de Gestion des Eaux) opèrent en tant que sous-unités locales décentralisées au sein des Agences de l'Eau (métropole) ou des Offices de l'Eau (DOM), qui eux-mêmes gèrent le bassin hydrographique dans son ensemble. La mise en œuvre de la DCE passe premièrement par une définition de l'état initial des masses d'eau et du risque de non atteinte du bon état de celle-ci avant 2015 (fin 2004). Ensuite, plusieurs consultations du public (2005 et 2008) sur les SDAGE ont été proposées, et un plan de gestion a été élaboré puis appliqué à partir de 2010. Des dérogations ont pu être obtenues dans des cas particuliers pour repousser à 2021 ou 2027 l'atteinte du bon état écologique et chimique.

L'état chimique des masses d'eau est basé sur l'analyse d'une liste de 33 substances prioritaires qui comporte 10 pesticides (alachlore, atrazine, chlorfenvinphos, chlorpyrifos, diuron, endosulfan, lindane, isoproturon, simazine, trifluraline) et « l'état chimique dans l'état écologique » porte sur 163 molécules dont une cinquantaine de pesticides. Pour chacune de ces substances une norme de qualité environnementale (NQE) est déterminée (Ineris, 2012).

4.2. Plan Ecophyto 2018

Ecophyto 2018 est un plan national issu du Grenelle de l'environnement qui vise, selon l'ex-ministre de l'agriculture Bruno Lemaire, à « réduire de moitié l'utilisation des produits phytopharmaceutiques d'ici 2018, si possible ». Ce programme est basé sur neuf axes qui ont pour objectif de 1) suivre l'usage des pesticides, 2) diffuser les systèmes agricoles économes en produits phytosanitaires, 3) accélérer les activités de recherche, 4) former les acteurs principaux, 5) surveiller pour traiter au minimum, 6) intégrer la spécificité des départements d'outre mer, 7) agir aussi en zones non agricoles, 8) organiser une gouvernance mixte et communiquer, 9) réduire les risques pour les utilisateurs. A titre d'exemple, la réduction

effective de la consommation en produits phytosanitaires passera par la promotion du bio-contrôle (ou lutte biologique), la favorisation de la diversité génétique des plantes cultivées, la validation de bonnes pratiques dans des fermes pilotes, le choix d'un matériel adapté, la surveillance des bio-agresseurs, la gestion des déchets phytosanitaires, et la réduction drastique ou l'élimination des produits phytosanitaires dans l'entretien de espaces publics (démarche « zérophyto » dans les communes).

4.3. REACH

REACH (Registration Evaluation Authorization and restriction of Chemicals) est un règlement du Parlement Européen et du Conseil de l'Union Européenne adopté le 18 décembre 2006 et entré en vigueur le 1^{er} juin 2007. Il a pour objectif d'instaurer un système harmonisé à l'échelle européenne d'enregistrement, d'évaluation, et d'autorisation des substances chimiques, afin de mieux protéger la santé humaine et l'environnement contre les risques associés à ces substances. L'originalité de ce règlement réside dans le transfert de la responsabilité d'évaluation et de gestion des risques vers les industriels. Dans les faits, les industriels ont pris un retard important dans l'étape d'enregistrement des substances chimiques, et un nombre considérable de dérogations ont été délivrées dans les cas où l'industriel démontre l'impossibilité de remplacement du produit.

5. ECHANTILLONNAGE PASSIF DES MILIEUX AQUATIQUES

5.1. Différents modes d'échantillonnage

Le suivi réglementaire imposé par la DCE est basé sur une stratégie d'échantillonnage actif ponctuel (*cf.* illustration Figure 6), qui consiste à échantillonner à un temps donné une masse d'eau à un endroit défini. La représentativité spatiale et temporelle de ce type d'échantillonnage est donc conditionnée par le choix des sites (zones spécifiques de rejet ou au contraire intégratrices, homogénéité du milieu, etc.) mais aussi par la fréquence des prélèvements qui va permettre d'appréhender plus ou moins finement les fluctuations de concentration au niveau de la masse d'eau échantillonnée. Ainsi, si la contamination réelle du cours d'eau suit des variations saisonnières, des prélèvements ponctuels mensuels ou bimensuels seront suffisants pour décrire précisément la chronique annuelle de pollution. A l'inverse, si la contamination varie à l'échelle de quelques heures, il sera alors nécessaire

d'adapter la stratégie d'échantillonnage en augmentant la fréquence des prélèvements de manière à obtenir une information plus juste. Si l'on choisit une fréquence de prélèvement très élevée, on peut avoir recours à un préleveur automatique qui permet d'échantillonner à pas de temps ou à pas de débit fixe (prélèvement horaire ou à n mètres cube d'eau passés par exemple). Ce mode d'échantillonnage à haute fréquence offre une vision plus réaliste de la contamination, mais implique des complications logistiques (source d'énergie nécessaire *in situ*, stockage d'échantillons) et un surcoût lié à l'investissement (préleveur automatique et local de stockage) et au nombre d'analyses nécessairement plus élevé. Ce dernier désavantage peut néanmoins être minimisé en regroupant les échantillons pour accéder *in fine* à une concentration moyennée sur la période choisie, à défaut d'obtenir le profil dynamique de contamination. L'échantillonnage ponctuel à pas de temps lâche (quelques prélèvements par an) pratiqué actuellement par les réseaux de surveillance souffre d'un manque de représentativité probable, notamment sur les petits cours d'eau. La Figure 7 illustre ce phénomène, avec une tendance à la baisse mesurée par prélèvements ponctuels sur la période donnée, alors que la contamination réelle fluctue fortement et aurait plutôt tendance à se maintenir.



Figure 6. Illustration de la mise en œuvre sur le terrain de l'échantillonnage ponctuel (à gauche) et passif (à droite).

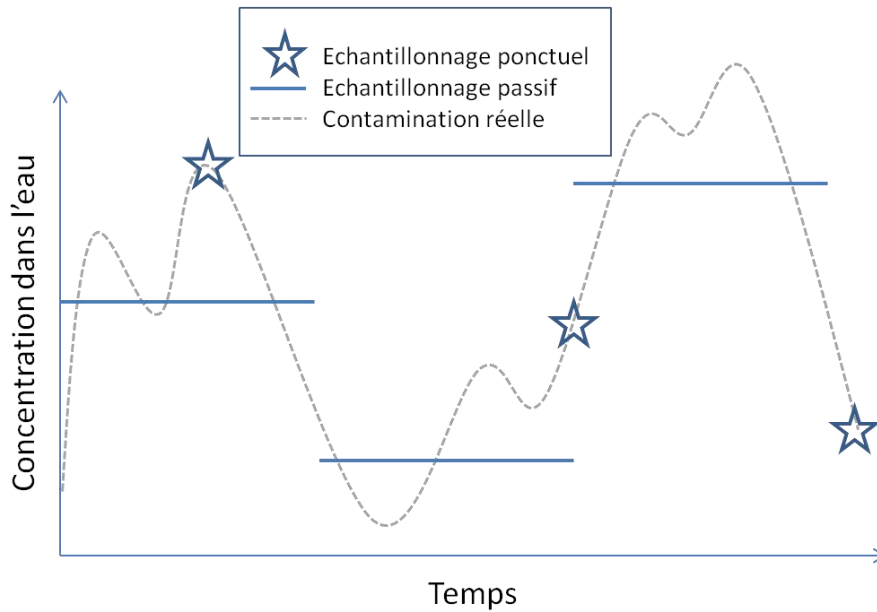


Figure 7. Représentativité temporelle des échantillonnages ponctuels et intégratifs.

L'échantillonnage passif intégratif (cf. illustration Figure 6) s'oppose à l'échantillonnage actif du fait qu'il permet d'intégrer de manière continue la concentration dans le milieu grâce à des dispositifs sélectifs d'une catégorie de composés chimiques. Pratiquement, l'accumulation des analytes cibles se fait par diffusion depuis le milieu vers la phase réceptrice et ne nécessite par conséquent pas d'autre source d'énergie. Cette technique permet donc d'accéder à une concentration pondérée par la durée d'exposition (time-weighted average concentration : TWA concentration, Figure 7) moyennant l'étude préalable en laboratoire des paramètres d'accumulation des contaminants (i.e. cinétiques d'échanges). Par conséquent, l'échantillonnage passif se rapproche d'une part de l'échantillonnage ponctuel d'un point de vue logistique et financier (accessibilité et facilité d'utilisation), et d'autre part de l'échantillonnage actif à haute fréquence du point de vue de la qualité de l'information récoltée. Par ailleurs, de récents travaux (Ort *et al.*, 2010) montrent que l'erreur liée à l'étape d'échantillonnage prend une place importante et souvent négligée dans l'ensemble du processus de caractérisation des niveaux de contamination. En effet, l'erreur totale associée à un résultat final se décompose entre l'erreur d'échantillonnage/traitement d'échantillon et l'erreur analytique. Les efforts méthodologiques constants ainsi que l'apparition de nouvelles technologies (spectrométrie de masse par exemple) tendent à réduire l'erreur analytique, alors que l'étape d'échantillonnage demeure soumise à une variabilité importante, inhérente à la nature

même de l'échantillonnage ponctuel. Outre le gain de représentativité temporelle, l'échantillonnage passif offre la possibilité de réduire de manière drastique les limites de quantification du fait de la forte préconcentration des contaminants *in situ*. D'autres avantages pratiques, tels que le faible encombrement ou la facilité de conservation (stabilité accrue des analytes une fois piégés par la phase réceptrice), peuvent parfois avoir leur importance lors de monitoring à grande échelle (Allan *et al.*, 2011; Munaron *et al.*, 2012). Ainsi, l'adoption de l'échantillonnage passif dans les réseaux de surveillance relatifs à la mise en place de la DCE constituerait un perfectionnement significatif du prisme par lequel nous revient l'image de la contamination des masses d'eau. Les avantages se situeraient à différentes échelles de contrôle, que ce soit dans le suivi de routine (i.e. contrôle de surveillance), le contrôle opérationnel ou bien le contrôle d'enquête (Figure 8).

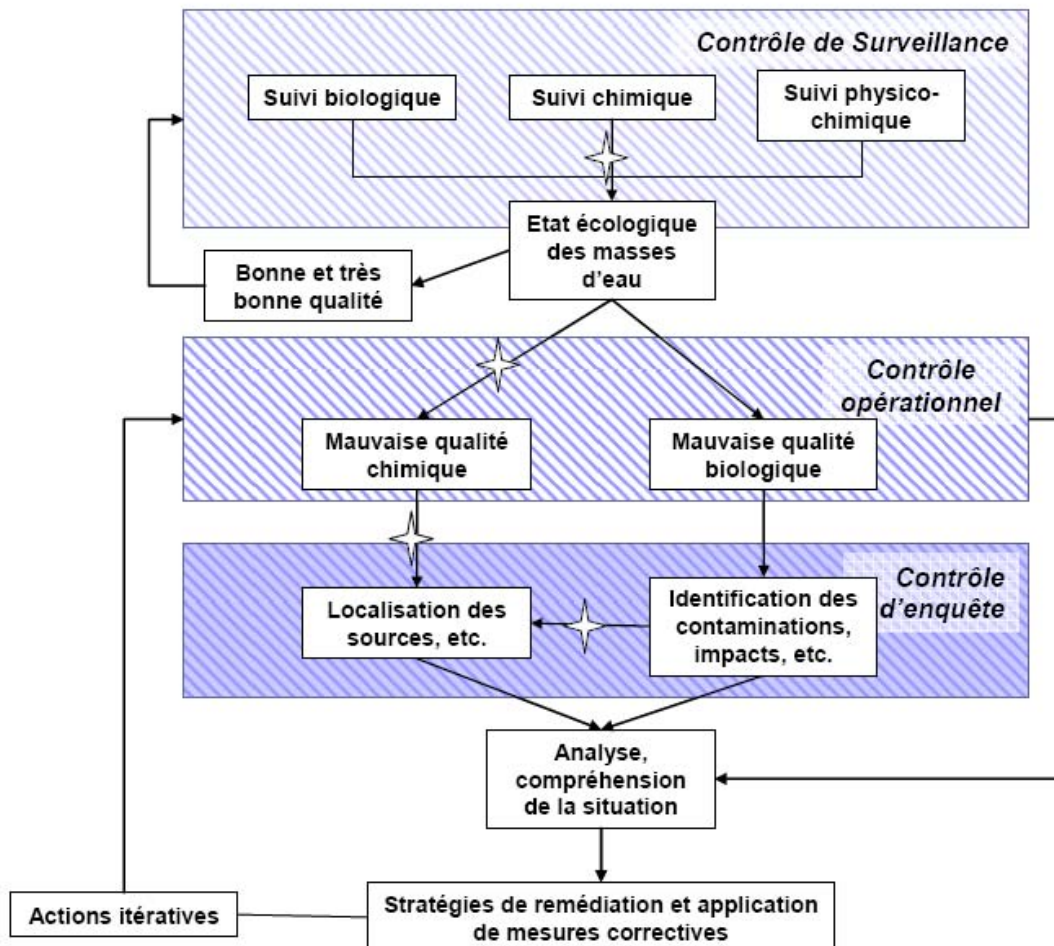


Figure 8. Schéma des trois types de contrôle impliqués dans le cadre de la Directive Cadre européenne sur l'Eau (DCE). L'utilisation possible d'échantillonneurs passifs est représentée par les étoiles. D'après Allan *et al.* (2006).

5.2. Histoire de l'échantillonnage passif

L'histoire de l'échantillonnage passif commence au début des années 1970 avec le développement de dispositifs capables d'accumuler des polluants atmosphériques par diffusion (Palmer et Gunnison, 1973) ou perméation (Reiszner et West, 1973). Ce n'est que vingt ans plus tard que les premiers échantillonneurs passifs aquatiques font leur apparition avec le SPMD (Semipermeable Membrane Device ; Huckins *et al.*, 1990) destiné à l'échantillonnage des composés organiques hydrophobes, puis le DGT (Diffusive Gradient in Thin-film ; Davison et Zhang, 1994; Zhang et Davison, 1995) qui est spécifique des contaminants métalliques.

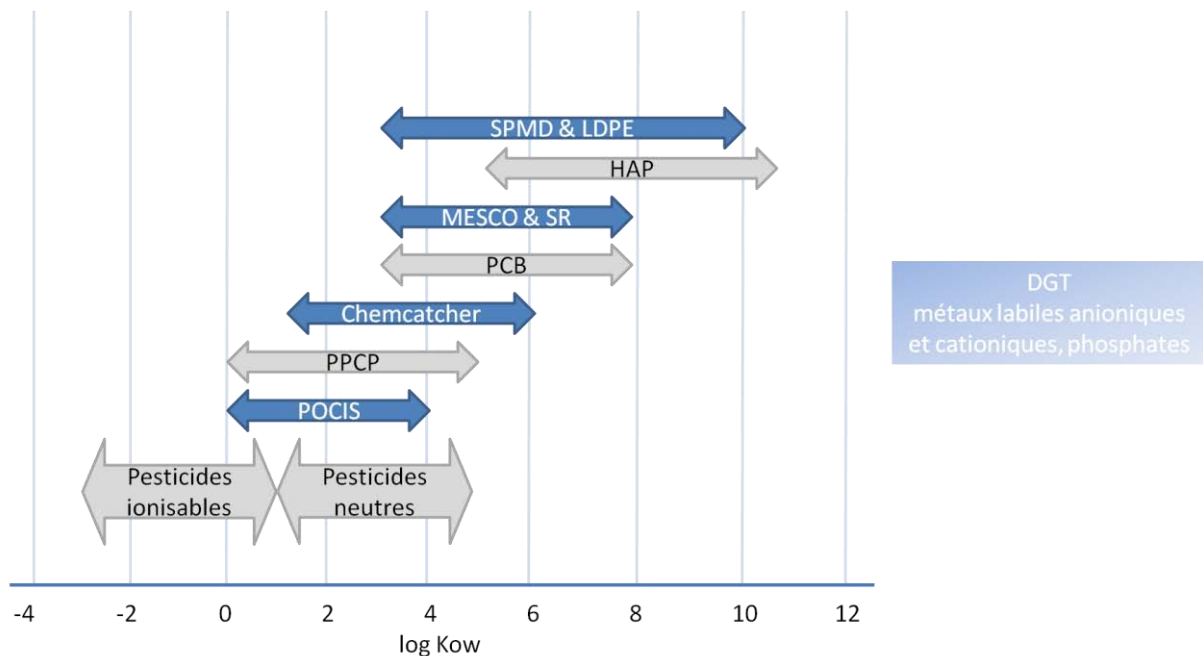


Figure 9. Domaine d'application des principaux échantillonneurs passifs (en bleu) et gamme de polarité de quelques familles de contaminants organiques (en gris). Applicabilité du Diffusive Gradient in Thin-fim (DGT) spécifiée pour les composés inorganiques.

Depuis, un nombre considérable d'échantillonneurs passifs aquatiques ont été développés pour un large éventail de contaminants : MESCO (Membrane-Enclosed Silicone Collector ; Paschke *et al.*, 2006), LDPE (Low-Density Polyethylene ; Müller *et al.*, 2001), SR (Silicone Rubber ; Rusina *et al.*, 2010), Chemcatcher (Kingston *et al.*, 2000), POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler ; Alvarez *et al.*, 2004). Chacun de ces outils échantillonne spécifiquement des contaminants dans une gamme de polarité donnée (Figure 9), définie par le $\log K_{ow}$ (coefficient de partage octanol-eau). Il est toutefois remarquable

qu'aucun outil n'est adapté à l'échantillonnage des composés organiques extrêmement polaires et acides ($\log K_{ow} < 0$). Cependant, on note d'une part que le POCIS se rapproche le plus leur gamme de polarité, et d'autre part que le DGT permet l'échantillonnage de composés anioniques inorganiques (cyanates, phosphates).

5.3. Théorie de l'échantillonnage passif intégratif

Dans leur revue bibliographique, Vrana *et al.* (2005) décrivent l'accumulation des analytes dans les échantillonneurs passifs (décrite par le facteur de concentration -CF-, ou le ratio des concentrations dans l'échantillonneur et dans l'eau) par une cinétique du premier ordre (Figure 10). Cette cinétique globale peut être séparée en deux parties : un régime intégratif pendant lequel le facteur de concentration est proportionnel au temps ($t < t_{1/2}$), et un régime d'équilibre où le facteur de concentration tend vers un équilibre échantillonneur-eau (K_{sw}) et devient indépendant du temps ($t \gg t_{1/2}$). Afin d'accéder à une information quantitative, il est donc nécessaire que le temps d'exposition n'excède pas $t_{1/2}$, de manière à pouvoir déduire la contamination moyennée *via* la connaissance préalable de la pente d'accumulation k_u (étude et étalonnage préalable en laboratoire dans des conditions contrôlées).

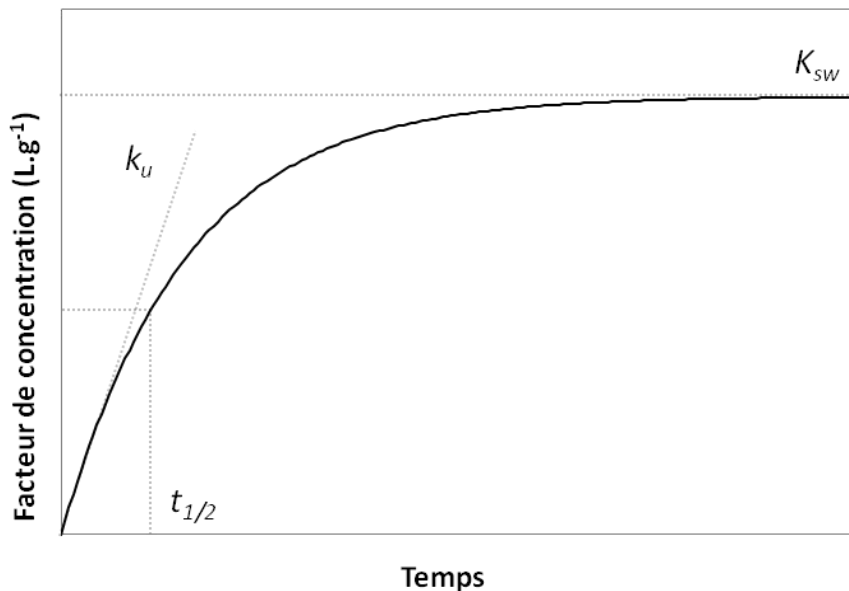


Figure 10. Accumulation des contaminants dans un échantillonneur passif (d'après Vrana *et al.* 2005).

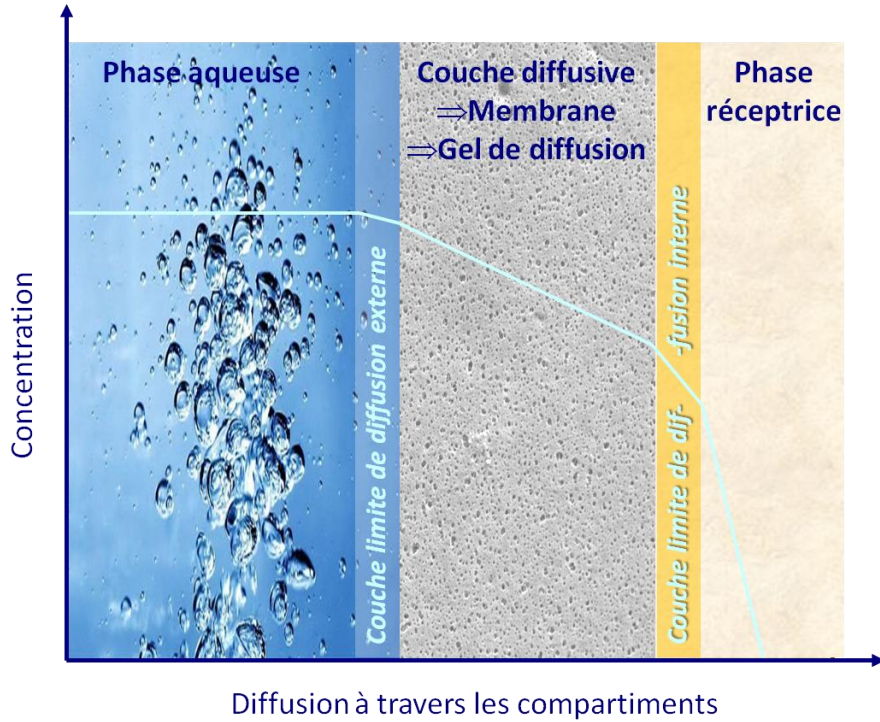


Figure 11. Différents compartiments entre le milieu à échantillonner et la phase réceptrice d'un échantillonneur passif. La concentration en contaminants est représentée en turquoise (d'après Seethapathy *et al.*, 2008; Lissalde, 2010).

La phase réceptrice (Figure 11) doit agir comme un « puits sans fond », assurant ainsi une diffusion constante depuis la phase aqueuse vers l'échantillonneur. En d'autres termes, la capacité de la phase réceptrice (adsorbant dans le cas du POCIS) doit être loin de la saturation afin de pouvoir appliquer la première loi de Fick :

$$F = -D \cdot \frac{\partial C(x,t)}{\partial x} \text{ Eq. 1}$$

Que l'on peut réécrire ainsi :

$$C_w = \frac{M_s \cdot \Delta g \cdot C_s}{D \cdot A \cdot t} = \frac{C_s}{k_u \cdot t} \text{ Eq. 2}$$

Où F représente la diffusion des analytes ($\text{ng} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), D la constante de diffusion des analytes ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), C_w la concentration dans l'eau ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), M_s la masse de phase réceptrice, Δg l'épaisseur de la couche de diffusion, C_s la concentration dans la phase réceptrice, A l'aire exposée et t le temps d'exposition.

Le système, milieu et échantillonneur passif, est composé de trois compartiments principaux : la phase aqueuse, la phase diffusive incluant la couche limite et la membrane, puis la phase réceptrice (Figure 11). Pour la plupart des échantillonneurs dédiés aux composés organiques polaires (POCIS et Chemcatcher), la cinétique globale d'échange est fortement contrôlée par l'épaisseur de la couche limite associée à l'interface eau-membrane (Alvarez *et al.*, 2004; Mazzella *et al.*, 2008; Vermeirssen *et al.*, 2008; Charlestra *et al.*, 2012). Le DGT intègre quant à lui un gel de diffusion d'une épaisseur donnée (0,7 à 1 mm généralement), ce qui permet de réduire l'influence de l'épaisseur de la couche limite, à condition d'avoir un milieu aqueux légèrement agité ($> 2 \text{ cm.s}^{-1}$; Gimpel *et al.*, 2001).

5.4. Polar Organic Chemical Integrative Sampler

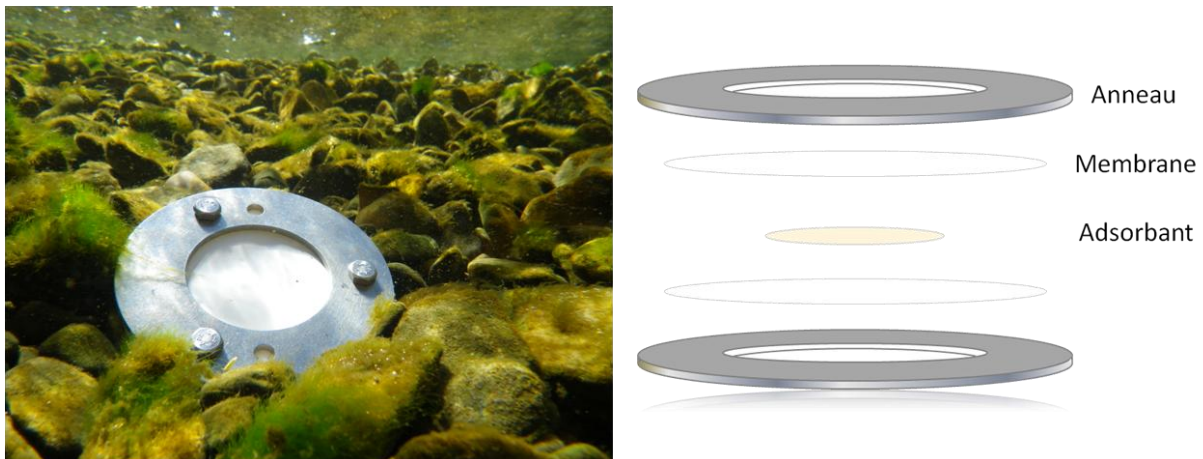


Figure 12. Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS).

Le POCIS a été développé au début des années 2000 pour pallier l'absence d'échantillonneurs pour les composés organiques polaires (Alvarez, 1999b; Alvarez *et al.*, 2004). Il est constitué d'un adsorbant microporeux séquestré entre deux membranes de polyéthersulfone (PES, diamètre des pores $0,1 \mu\text{m}$) elles-mêmes verrouillées par deux anneaux en inox (Figure 12). La nature de la membrane a été sélectionnée pour interagir au minimum avec les composés polaires, et pour limiter le développement de films biologiques (biofouling) susceptibles d'influencer la diffusion. Les configurations commerciales « pesticide » et « pharmaceutique » diffèrent par la nature de leur phase adsorbante, et sont destinées à l'échantillonnage des contaminants éponymes. Le « POCIS pesticide » contient une phase réceptrice triphasique (isolute ENV+, Amborsorb 1500, SX3 BioBeads), et le « POCIS pharmaceutique » contient de la phase Waters Oasis HLB. Malgré leurs

dénominations, une étude a montré que la conformation « pharmaceutique » est plus appropriée à l'échantillonnage des pesticides polaires (Mazzella *et al.*, 2007).

Comme mentionné auparavant, l'inconvénient majeur de cet outil vient de la dépendance de ses paramètres cinétiques d'accumulation vis-à-vis des conditions environnementales, et hydrodynamiques plus particulièrement (i.e. vitesse du courant). Les constantes d'accumulation k_u calibrées en laboratoire ne sont donc plus applicables directement car elles sont caractéristiques de conditions fixées (température, vitesse de courant). Pour accéder à des données quantitatives il devient donc nécessaire d'adapter les constantes cinétiques en 1) calibrant le dispositif *in situ* (Harman *et al.*, 2011b), c'est-à-dire spécifiquement pour chaque site étudié, ou 2) en utilisant un ou plusieurs composés de référence et de performance (PRC ; Booij *et al.*, 1998; Huckins *et al.*, 2002), semblables à des étalons internes des conditions environnementales réelles capables de corriger les constantes d'accumulation k_u calibrées en laboratoire (Mazzella *et al.*, 2007). Cependant, les deux méthodes présentent chacune des inconvénients : un coût logistique quasi-insupportable pour la première (multiplication des calibrations sur tous les types de milieu), et des doutes persistants concernant l'applicabilité de l'approche PRC pour le POCIS (Harman *et al.*, 2011a).

Malgré ces difficultés, le POCIS demeure un outil privilégié pour l'échantillonnage des composés organiques polaires du fait de sa facilité de mise en œuvre et de sa capacité d'évolution (modification de la membrane, de la phase réceptrice).

5.5. Diffusive Gradient in Thin-film

Le DGT a été développé initialement pour la quantification des résidus métalliques sous forme labile (Davison et Zhang, 1994; Zhang et Davison, 1995). L'originalité de cette technique réside dans le fait qu'elle est indépendante des variations hydrodynamiques grâce à la présence d'un gel de diffusion d'une épaisseur suffisante pour négliger la couche limite de diffusion externe si la vitesse de courant est supérieure ou égale à $2 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ (Figure 11, Gimpel *et al.*, 2001). Le dispositif en lui-même (Figure 13) est constitué d'une phase réceptrice spécifique des anions ou cations métalliques (ferrihydrite ou chelex respectivement) en suspension dans un gel de polyacrylamide, recouverte d'un gel de

diffusion (polyacrylamide, 0,7 à 1 mm d'épaisseur), lui-même protégé du milieu à échantillonné par une membrane microporeuse.



Figure 13. Diffusive Gradient in Thin-film (DGT).

Bien qu'ils soient indépendants des conditions hydrodynamiques, les paramètres d'échantillonnage du DGT restent néanmoins soumis à l'influence d'autres variables environnementales telles que la température et le biofouling. Il est donc indispensable de mesurer préalablement l'impact de ces variables en laboratoire. A ce propos, une étude récente montre l'efficacité des membranes en polycarbonate pour lutter contre le biofouling lors d'expositions *in situ* (Uher *et al.*, 2012).

L'utilisation de ce type d'outils, initialement dévolus à l'échantillonnage des métaux, a été élargie à d'autres ions inorganiques (phosphates par exemple) grâce à l'utilisation d'une phase réceptrice à base de dioxyde de titane (Panther *et al.*, 2011). Aussi, il est intéressant de noter que cette technique a été imaginée initialement pour tous types d'ions, dont les acides organiques éventuellement (Davison et Zhang, 1994; Alvarez, 1999a).

6. PRESENTATION DU SITE D'ETUDE : LE BASSIN D'ARCACHON

Le suivi de la contamination en pesticides des tributaires du Bassin d'Arcachon constitue un des objectifs principaux de ce travail de thèse. Ce volet s'inscrit dans le programme régional OSQUAR (Ostréiculture et qualité du milieu, approche dynamique du Bassin d'Arcachon, 2009-2012) qui fait suite à une importante crise ostréicole. Fort des expériences passées (Auby *et al.*, 2007; Rapport Ascobar, 2009), ce nouveau suivi respecte un plan

d'échantillonnage plus complet que les précédents. Il vise à acquérir en continu 24 mois de données en élargissant la gamme de molécules suivies (intégration des molécules anioniques en particulier), et en privilégiant l'utilisation d'échantillonneurs passifs (POCIS en l'occurrence).

Les travaux de synthèse effectués en 1997 par l'Ifremer (Bouchet *et al.*) sur l'ensemble des connaissances existantes relatives au Bassin d'Arcachon alimentent largement cette brève présentation. D'autres études plus récentes ont également servi à renseigner des éléments plus spécifiques (Beuffe et Vernier, 1999; De Wit *et al.*, 2005; Plus *et al.*, 2006; Auby *et al.*, 2007; Crespo, 2009; Plus *et al.*, 2010; Roubeix *et al.*, 2012).



Figure 14. Localisation du Bassin d'Arcachon (44°40 N et 1°10 O). Source Géoportail.

6.1. Présentation générale

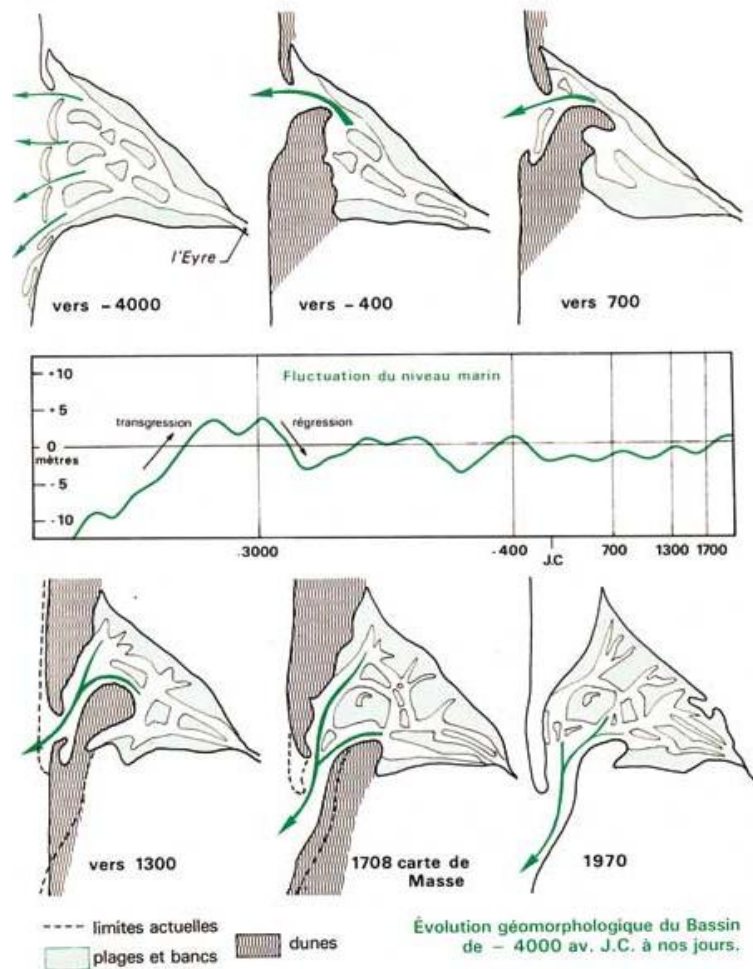


Figure 15. Evolution géomorphologique du Bassin d'Arcachon, d'après Froidefond (1982).

Unique discontinuité significative du littoral aquitain, le Bassin d'Arcachon est une lagune mésotidale d'une surface de 156 km² située sur la façade Atlantique française (Figure 14). Autrefois delta de l'Eyre (Figure 15), ce site subit des modifications géomorphologiques conséquentes et constantes. L'influence de la marée y est considérable, avec un taux de renouvellement du volume total d'eau qui avoisine 50 % en moyenne à chaque marée, ainsi qu'une zone intertidale couvrant plus des deux tiers de la surface totale (115 km²). Cette zone intertidale accueille le plus grand herbier européen de zostères (*Zostera noltii*, *Zostera marina*), essentiel au maintien de la forte biodiversité aquatique du site (frayère, nurserie de poissons). L'essentiel du quadrillage de protection environnemental du Bassin est composé de Zones Importantes de Conservation des Oiseaux (ZICO), de Zones de Protection Spéciales (ZPS) Natura 2000 au titre des directives européennes Habitat et Oiseau, et de Zones

Naturelles d'Intérêt Faunistique et Floristique (ZNIEFF II Bassin d'Arcachon, ZNIEFF I prés salés). Le Bassin d'Arcachon comprend plusieurs types de milieux, protégés à différents titres : bancs de sable, platiers intertidaux, île aux Oiseaux, marais endigués, deltas fluviaux, prés salés. Le climat y est de type tempéré océanique, avec des températures atmosphériques moyennes mensuelles qui varient entre 6 et 21 °C. Les précipitations moyennes annuelles sont de l'ordre de 900 mm à Arcachon, et les vents de secteur Ouest sont dominants en fréquence et en énergie déployée. Il est à noter que le Bassin d'Arcachon a subi des événements météorologiques violents à plusieurs reprises ces quinze dernières années (tempêtes Martin, Klaus, Joachim). Cependant, son climat favorable en comparaison de celui de l'ensemble du littoral Aquitain, caractérisé par des hivers plus doux ainsi que des précipitations moindres en période estivale, en fait une destination touristique privilégiée.

6.2. Hydrologie

On considère que chaque année 1250 millions de m³ d'eau douce transitent par le Bassin d'Arcachon pour rejoindre l'Océan Atlantique, chiffre à mettre en rapport avec un volume oscillant moyen de 384 millions de m³ soit environ la moitié du volume moyen du Bassin (Plus *et al.*, 2006). Ce volume d'eau douce est constitué de 83 % d'écoulements superficiels, 11 % d'apports directs par précipitations et 6 % d'écoulements phréatiques. L'écoulement superficiel, largement majoritaire, est lui-même principalement alimenté par l'Eyre.

A l'instar des Landes de Gascogne, le bassin versant du Bassin d'Arcachon est perméable puisqu'il est constitué d'une couche superficielle de sable des Landes (couche de 10 à 30 mètres de profondeur), reposant sur une couche de graviers et sables argileux du Pliocène. Les 4138 km² couverts par ce bassin versant sont composés de 1137 km² drainés par les canaux exutoires des lacs alentours (étang de Lacanau, lac de Cazaux, étang d'Hourtin) et de 3001 km² drainés par les cours d'eau naturels ou creusés (dits « crastes » en langue gasconne). L'Eyre constitue l'affluent majoritaire du Bassin en totalisant à elle seule plus de 70 % des apports en eau douce.

Du fait de la perméabilité du sol, la nappe phréatique sub-affleurante plio-quadernaire est omniprésente et communique directement avec les masses d'eau superficielles (cours d'eau, lacs et Bassin d'Arcachon). En 1964, Schoeller annonçait même dans son ouvrage « Etude hydrogéologique du bassin de l'Eyre » que « l'Eyre et ses affluents agissent

beaucoup plus comme agents de drainage de la nappe phréatique qu'en rassembleurs d'eau de ruissellement superficiel. Partant des extrémités amont aux extrémités aval, aussi bien en hiver qu'en été, ils drainent [l'eau des nappes] à cause de leur encaissement et de la faible profondeur de la nappe ». Du fait de l'homogénéité du territoire, cette observation peut être extrapolée à l'ensemble des vingt affluents qui alimentent directement la lagune. Cette caractéristique géologique typique de la région landaise implique des mécanismes de transfert de contaminants peu conventionnels (infiltration contre ruissellement), en mettant en jeu un trajet hydrologique complexe entre le sol et la lagune (transfert vertical vers la nappe puis horizontal vers le cours d'eau). Par conséquent, nous pouvons nous attendre à des profils singuliers de contamination en pesticides dans les tributaires du Bassin d'Arcachon, plus dépendants de facteurs hydrologiques que des périodes d'application effectives.

6.3. Occupation du sol, usages et problématique phytosanitaire

Depuis deux siècles, le bassin versant du Bassin d'Arcachon a connu des modifications majeures d'occupation du sol (De Wit *et al.*, 2005). Exclusivement composé de landes, bruyères et zones humides jusqu'au début du XIX^{ème} siècle, le bassin versant a subi un boisement massif (les forêts de *Pinus pinaster* représentent aujourd'hui 75,2 % du bassin versant) dès l'application du décret impérial de 1857 qui visait à assécher les zones humides gasconnes, ce qui provoqua, outre la métamorphose paysagère, la disparition des sociétés agro-pastorales traditionnelles des Landes de Gascogne. De manière concomitante, les activités conchylicoles, aujourd'hui caractéristiques de la culture et de l'économie du « Bassin », prennent un essor considérable dans les années 1860.

L'occupation du sol sera de nouveau bouleversée dans les années 1960 avec l'introduction à large échelle de grandes cultures. En effet 9,3 % du bassin versant sont désormais destinés à l'agriculture, dont 71,2 % pour la culture du maïs et environ 15 % pour la culture légumière. Parallèlement aux activités ostréicoles et agricoles, le Bassin d'Arcachon accueille un tourisme important qui repose depuis presque deux siècles sur la balnéothérapie, et plus récemment sur les activités nautiques. Malgré une pression anthropique croissante, le Bassin d'Arcachon reste une zone faiblement urbanisée dans son ensemble (5,5 % du bassin versant), bien que les littoraux soient très prisés. L'industrie y

occupe une place mineure par rapport aux tendances nationales, avec des activités principalement basées sur l'exploitation du bois (papeteries, scieries), la construction navale légère et l'industrie aéronautique.

Tableau 1. Liste des molécules les plus utilisées pour les usages agricoles et non agricoles sur le bassin versant du Bassin d'Arcachon. Quantités annuelles appliquées entre parenthèses. D'après le rapport « Les pratiques phytosanitaires sur le Bassin d'Arcachon » (Dagens, 2012)

Usage agricole (quantité appliquée en tonnes par an)	Usage non agricole (quantité appliquée en kg par an)
Metam-sodium (104)	Glyphosate (387)
1,3-dichloropropene (19)	Cypermethrine (45)
S-métolachlore (16)	Flazasulfuron (24)
Mancozèbe (7,1)	Diflufenican (17)
Glyphosate (5,0)	2,4 MCPA (12)
Bentazone (4,9)	Oryzalin (7.4)
Acétochlore (3.8)	Fluazifop-p-buthyl (2.8)
Thiophanate-methyl (2,4)	Pyraclostrobin (2.4)
Chlorotalonil (2.3)	Isoxaben (2.1)
Pendimethaline (1.6)	Oxadiazon (1.7)
Diflubenzuron (1.4)	Dicamba (1.2)
Sulcotrione (1.2)	Fosétyl aluminium (0.8)
Prosulfocarbe (1.1)	

Ainsi, de multiples usages agricoles et non agricoles (entretien de la voirie et du réseau ferroviaire, espaces verts, jardinage, campagnes de démoustication, nautisme) recensés sur le Bassin d'Arcachon peuvent être consommateurs de produits phytosanitaires, et donc participer à la contamination des masses d'eaux superficielles et souterraines. Dans son rapport de 2012, le récent « Réseau Pesticides Bassin d'Arcachon » (REPAR) mis en place pour proposer *in fine* des mesures de gestion du risque phytosanitaire, a publié une étude sur les pratiques phytosanitaires du Bassin d'Arcachon (Dagens, 2012). Le Tableau 1 résume les molécules les plus utilisées autour du Bassin d'Arcachon. Il apparaît en premier lieu que les usages non agricoles sont nettement minoritaires par rapport aux usages agricoles, avec des doses appliquées plus de 100 fois inférieures. Malgré la prépondérance en surface cultivée de la culture de maïs, il ressort que les cultures légumières (carotte en particulier) sont très consommatrices de produits phytosanitaires, et notamment de nématicides (metam-sodium, 1,3-dichloropropène). Par ailleurs, à l'exception de ces dernières molécules, la liste de molécules dosées dans notre étude (*cf.* section 6.5) prend en compte plus de 30 % des molécules les plus utilisées. En effet, à défaut d'avoir pu accéder à ce type de données au préalable, la liste des molécules suivies a été déterminée en fonction des usages dominants (*cf.* section 6.5).

6.4. Risques socio-environnementaux

Conjointement à la progression de l'anthropisation, apparaissent des risques environnementaux et sociaux étroitement liés. Ces risques sont d'autant plus élevés que la richesse écologique et culturelle du site est importante. Le Bassin d'Arcachon illustre parfaitement ce phénomène, puisque d'une part, il jouit d'une culture forte, d'une qualité paysagère unique, et d'une biodiversité considérable par conséquent sensible ; et d'autre part, il est victime de dégradations notoires des activités ostréicoles (Miossec *et al.*, 2009) qui constituent pour partie sa valeur patrimoniale ; ainsi que de sa biodiversité (régression de l'herbier de zostères et ses implications écologiques ; Plus *et al.*, 2010). Dans ce contexte, il n'est pas déraisonnable d'envisager que la trajectoire empruntée par des usages exponentiellement consommateurs de substances toxiques engendrent, ou du moins participent à l'érosion globale de la richesse de cette région observée pendant la dernière décennie. Plusieurs de ces usages à risques impliquent l'utilisation de produits phytosanitaires (agriculture, jardinage, entretien des espaces publics et voiries, nautisme - peintures antisalissures-), et leur suivi dans l'environnement devient donc indispensable à une politique de gestion du risque environnemental.

6.5. A propos des pesticides sélectionnés

La liste des molécules étudiées a été initialement déterminée en fonction des usages dominants relevés sur le site du Bassin d'Arcachon, suivant les connaissances pré-acquises en 2010. Ainsi, deux campagnes majeures de suivi des pesticides (Auby *et al.*, 2007; Rapport Ascobar, 2009) ont influencé la pertinence de cette liste, en faisant état d'une pollution en plusieurs molécules entre 2005 et 2009 (par exemple phénylurées, chloroacétanilides). Par ailleurs, la dominance de la culture du maïs et par conséquent les composés associés à ce type de culture (métolachlore, acétochlore, bentazone, sulcotrione, mesotrione, linuron) ont attiré plus particulièrement notre attention.

La liste finale (Tableau 2) comprend des molécules sélectionnées lors de développements analytiques antérieurs (Tran-Thi *et al.*, 2009; Desgranges, 2010; Lissalde *et al.*, 2011), ainsi qu'une sélection d'herbicides acides qui ont fait l'objet d'un développement spécifique pour cette étude. Au total la sélection comporte 66 pesticides aux modes d'actions et propriétés physico-chimiques variés (insecticides, fongicides, herbicides, neutres, acides, hydrophiles,

hydrophobes...) issus d'une vingtaine de familles chimiques différentes. Les précédentes sélections intègrent des molécules très répandues (glyphosate, atrazine, métolachlore, acétochlore, diuron, chlorpyriphos...) ainsi que leurs métabolites (acide aminométhyl phosphonique -AMPA-, atrazine déséthyl -DEA-, 1-(3,4-dichlorophenyl)-3-méthyl urée -DCPMU-).

Les développements analytiques menés dans le cadre de cette thèse portent plus particulièrement sur une liste de 19 herbicides et métabolites acides largement utilisés en agriculture (aryloxyacides, etc.) et dont certains sont encore peu considérés lors des suivis environnementaux (tricétones, métabolites des chloroacétanilides par exemple) malgré leur capacité de transfert élevée (Comoretto *et al.*, 2008). Cette sélection a été élaborée en fonction des fréquences de quantification au niveau national (2,4-D, bentazone, Figure 1) et de la disponibilité de NQE qui pointe les molécules pertinentes (2,4-D, bentazone, dichlorprop, dicamba, nicosulfuron, sulcotrione ; Ineris, 2012). Quatre métabolites acides du métolachlore et de l'acétochlore (acétochlore ethan sulfonic acid -ESA-, acétochlore oxanilic acid -OA-, métolachlore-ESA, métolachlore-OA) ont également été ajoutés à la liste en raison de leur émergence à l'échelle mondiale (Kalkhoff *et al.*, 1998; Dagnac *et al.*, 2002). D'autres molécules fréquemment étudiées dans la littérature viennent enfin enrichir cette sélection (mécoprop, MCPA, metsulfuron-méthyle, ioxynil...).

Chapitre I. Éléments de contexte

Tableau 2. Liste et propriétés des pesticides étudiés. Molécules acides d'intérêt surlignées en bleu. Données issues de l'Ineris, de l'University of Hertfordshire et de l'ANSES. CA, concentration annuelle ; CMA, concentration maximale admissible

Molécule	Famille	Solubilité (mg.L ⁻¹)	log K _{ow}	pKa	Constante de Henry (Pa.m ³ .mol ⁻¹)	PNEC (µg.L ⁻¹)	NQE CA (µg.L ⁻¹)	NQE CMA (µg.L ⁻¹)
2,4-D	Herbicide, aryloxyacide	23180	-0.83	2.87	1.30x10 ⁻⁵	-	3	6
Acétochlore	Herbicide, chloroacétanilide	282	4.14	N.A.	2.10x10 ⁻³	0.35	-	-
Acétochlore-ESA	Métabolite acétochlore	-	-0.32	-	-	-	-	-
Acétochlore-OA	Métabolite acétochlore	-	-2.26	-	-	-	-	-
Aclonifène	Herbicide, diphenyl-éther	1.4	4.37	N.A.	3.03x10 ⁻³	0.5	-	-
Alachlore	Herbicide, chloroacétanilide	240	3.09	N.A.	3.20x10 ⁻³	1.3	0.3	0.7
AMPA	Métabolite glyphosate	-	-	-	-	-	-	-
Atrazine	Herbicide, triazine	35	2.7	N.A.	1.50x10 ⁻⁴	0.6	0.6	2
Azoxystrobine	Fongicide, strobilurine	6.7	2.5	N.A.	7.40x10 ⁻⁹	3	0.95	0.95
Bentazone	Herbicide, diazine	570	-0.46	3.28	7.20x10 ⁻⁵	540	70	450
Carbendazime	Fongicide, carbamate	8	1.48	N.A.	3.60x10 ⁻³	0.15	0.15	0.7
Carbofuran	Insecticide, carbamate	322	1.8	N.A.	5.00x10 ⁻⁵	-	-	-
Carbofuran-3-hydroxy	Métabolite carbofuran	-	-	N.A.	-	-	-	-
Chlorfenvinphos	Insecticide, organophosphoré	145	3.8	N.A.	-	-	0.1	0.3
Chlorpyrifos	Insecticide, organophosphoré	1.05	4.7	N.A.	0.478	5.2	0.03	0.1
Chlorsulfuron	Herbicide, sulphonylurée	12500	-0.99	3.4	3.50x10 ⁻¹¹	-	-	-
Chlortoluron	Herbicide, phénylurée	74	2.5	N.A.	1.44x10 ⁻⁵	2.4	0.1	0.2
Cyproconazole	Fongicide, triazole	93	3.09	N.A.	5.00x10 ⁻⁵	2.3	0.6	0.8
DCPMU	Métabolite diuron	-	-	N.A.	-	-	-	-
DCPU	Métabolite diuron	-	-	N.A.	-	-	-	-
DEA	Métabolite atrazine	-	-	N.A.	-	-	-	-
DET	metabolite terbuthylazine	-	-	N.A.	-	-	-	-
DIA	Métabolite atrazine	-	-	N.A.	-	-	-	-
Dicamba	Herbicide, acide benzoïque	250000	-1.88	1.87	1.00x10 ⁻⁴	45	0.5	6
Dichlorprop	Herbicide, aryloxyacide	350	2.29	3	8.80x10 ⁻⁶	9.1	2	9
Diclofop	Herbicide, aryloxyacide	122700	1.61	3.43	-	-	-	-
Diflufenican	Herbicide, phenoxy nicotinanilide	0.05	4.2	N.A.	1.18x10 ⁻²	0.025	0.01	0.045
Dimethoate	Insecticide, organophosphoré	39800	0.7	N.A.	1.42x10 ⁻⁶	-	0.1	170
Dimetomorph	Fongicide, morpholine	28.95	2.68	N.A.	2.04x10 ⁻⁵	5.6	5.6	34
Diuron	Herbicide, phénylurée	35.6	2.87	N.A.	2.00x10 ⁻⁶	0.52	0.2	1.8
Epoxiconazole	Fongicide, triazole	7.1	3.3	N.A.	1.00x10 ⁻²	0.43	0.2	12
Fenoprop	Herbicide, aryloxyacide	140	3.8	2.84	1.93x10 ⁻⁴	-	-	-
Flusilazole	Fongicide, triazole	41.9	3.87	N.A.	2.70x10 ⁻⁴	10.9	-	-
Glyphosate	Herbicide, phosphonoglycine	10500	-3.2	2.34	2.01x10 ⁻⁷	60	28	64
Hexazinone	Herbicide, triazine	33000	1.17	N.A.	1.10x10 ⁻⁷	-	-	-
Iodosulfuron	Herbicide, sulphonylurée	25000	1.59	3.22	2.29x10 ⁻¹¹	0.083	-	-
Ioxynil	Herbicide, benzonitrile	3034	2.2	4.1	1.50x10 ⁻⁵	1.3	-	-
IPPMU	Métabolite isoproturon	-	-	-	-	-	-	-
IPPU	Métabolite isoproturon	-	-	-	-	-	-	-
Iprodione	Fongicide, dicarboximide	12.2	3.1	N.A.	7.00x10 ⁻⁶	6.6	-	-
Irgarol	antifouling, triazine	-	-	N.A.	-	-	-	-
Isoproturon	Herbicide, phénylurée	70.2	2.5	N.A.	1.46x10 ⁻⁵	1.3	0.3	1
Kresoxim-Me	Fongicide, strobilurine	2	3.4	N.A.	3.60x10 ⁻⁴	15	-	-
Linuron	Herbicide, phénylurée	63.8	3	N.A.	2.00x10 ⁻⁴	2.1	1	1
MCPA	Herbicide, aryloxyacide	293900	-0.81	3.73	5.50x10 ⁻⁵	12.4	-	-
Mécoprop	Herbicide, aryloxyacide	250000	-0.19	3.11	2.20x10 ⁻⁴	2200	-	-
Mesotrione	Herbicide, tricétone	160	0.11	3.12	5.10x10 ⁻⁷	0.77	-	-
Metazachlore	Herbicide, chloroacétanilide	450	2.49	N.A.	5.90x10 ⁻⁵	5.6	-	-
Methomyl	Insecticide, carbamate	55000	0.09	N.A.	2.13x10 ⁻⁶	-	-	-
Métolachlore	Herbicide, chloroacétanilide	530	3.4	N.A.	2.4x10 ⁻³	6.7	-	-
Métolachlore-ESA	Métabolite métolachlore	-	-0.46	-	-	-	-	-
Métolachlore-OA	Métabolite métolachlore	-	-2.39	-	-	-	-	-
Metoxuron	Herbicide, phénylurée	678	1.6	N.A.	1.50x10 ⁻³	-	-	-
Metsulfuron-Me	Herbicide, sulphonylurée	2790	-1.7	3.75	4.50x10 ⁻¹¹	0.036	-	-
Nicosulfuron	Herbicide, sulphonylurée	7500	0.61	4.78	1.48x10 ⁻¹¹	0.17	0.035	0.17
Norflurazon	Herbicide, pyridazinone	34	2.45	N.A.	3.50x10 ⁻⁵	-	-	-
Oxadiazon	Herbicide, oxidiazole	0.57	5.33	N.A.	3.80x10 ⁻²	0.088	-	-
Pendimethaline	Herbicide, dinitroaniline	0.33	5.2	N.A.	2.73x10 ⁻³	0.55	-	-
Procymidone	Fongicide, dicarboximide	2.46	3.3	N.A.	2.65x10 ⁻³	-	-	-
Pyrimicarb	Insecticide, carbamate	3100	1.7	N.A.	3.3x10 ⁻⁵	1.7	-	-
Simazine	Herbicide, triazine	5	2.3	N.A.	5.60x10 ⁻⁵	-	1	4
Sulcotrione	Herbicide, tricétone	1670	-1.7	3.13	6.00x10 ⁻⁷	5.1	5	350
Tebuconazole	Fongicide, triazole	36	3.7	N.A.	1.00x10 ⁻⁵	1.325	1	1
Terbuthylazine	Herbicide, triazine	6.6	3.4	N.A.	3.24x10 ⁻³	-	0.06	0.3
Thiodicarb	Insecticide, carbamate	22.2	1.62	N.A.	4.31x10 ⁻²	-	-	-
Trifluraline	Herbicide, dinitroaniline	0.22	5.27	N.A.	10.2	-	0.03	0.9

Chapitre II.

Développement d'une méthode analytique pour le dosage des herbicides anioniques

Liste des tableaux

Table 1. Characterization of acidic herbicides.....	71
Table 2. Gradient of solvent compositions.....	74
Table 3. SRM transitions and ESI-MS ² conditions	75
Table 4. Chromatographic performances of RPLC and HILIC methods for selected herbicides	78
Table 5. Results of designs of experiment.....	83
Table 6. Results of the HILIC method validation. Associated relative standard deviations between brackets (n=5).....	84

Liste des figures

Figure 16. Influence of ACN proportion on the retention factor in HILIC mode, ammonium acetate buffer 200 mM, 200 $\mu\text{L min}^{-1}$	77
Figure 17. Extraction recoveries on divinylbenzene-co-N-vinylpyrrolidone (Oasis HLB) and PS-DVB (J.T. Baker SDB2). 200 mL of drinking water at neutral pH, 0.2 $\mu\text{g L}^{-1}$ spiked level, 3 cc cartridges containing 200 mg of sorbent, n=3.	80
Figure 18. Surface responses (two dimensions on the left and three dimensions on the right) for the recoveries (spiked drinking water) obtained with both RPLC and HILIC methods (F_0 volume set at 1.5 mL).....	81
Figure 19. Surface responses (two dimensions on top and three dimensions on the bottom) of either RPLC or HILIC for the matrix effects study (standard additions of freshwater, F_0 volume set at 2.7 mL).	82
Figure 20. Extraction recoveries for clean and complex matrix (drinking water and freshwater respectively) on HILIC and RPLC under selected SPE conditions (see Table 5, selected herbicides, n=5).	83
Figure 21. Concentrations measured in two rivers (Ponteils and Leyre) in winter and spring.....	85

1. AVANT PROPOS

Le premier objectif de ce travail de thèse consiste à développer une méthode analytique pour la quantification des herbicides anioniques dans les eaux de surface, quelle que soit la technique d'échantillonnage en amont.

Attendu que l'analyse de ces substances par chromatographie en phase gazeuse (GC) réclame une étape contraignante de dérivation pour remédier à leur faible volatilité (Öllers *et al.*, 2001), la chromatographie en phase liquide (LC) couplée à une détection par spectrométrie de masse en tandem (MS²) a été préférée. Des premiers essais sur une colonne échangeuse d'anions faibles sur base silice (Luna NH₂, Phenomenex) ont montré des résultats convenables sur matrice propre (eau de ville), mais décevants pour l'analyse d'eaux de rivière (diminution drastique du signal par complexation des analytes ou suppression d'ions dans l'interface electrospray (ESI ; Taylor, 2005). Deux techniques de séparation en phase liquide ont donc été évaluées et confrontées par la suite : la chromatographie liquide en phase inverse (RPLC) et la chromatographie liquide à interactions hydrophiles (HILIC).

La technique RPLC-ESI-MS² est actuellement la méthode de référence pour l'analyse environnementale des herbicides acides. Toutefois, il est nécessaire de trouver des palliatifs à la faible rétention des composés très hydrophiles sur les phases stationnaires hydrophobes (e.g. C₁₈). A cet effet, l'acidification de la phase mobile (Carabias-Martinez *et al.*, 2004) ou l'utilisation d'un agent d'appariement d'ion (Balnova, 1996) offrent généralement des résultats satisfaisants. Par ailleurs, la technique émergente HILIC (Alpert, 1990) fait l'objet d'un intérêt croissant pour l'analyse des composés organiques très hydrophiles de faible masse moléculaire, neutres ou ionisés (Dallet *et al.*, 2000; Chirita *et al.*, 2010), et aucune étude ne s'attache à évaluer ses performances pour la séparation de nos composés d'intérêt.

Ainsi, nous avons entrepris de comparer ces deux techniques séparatives en prenant en compte à la fois des critères de qualité de séparation, et de performance en termes de limites de quantification.

Une étape préalable d'extraction sur phase solide (SPE) a également été développée afin de purifier et préconcentrer les échantillons d'eau. En vue de satisfaire la nécessité de

rendements d'extraction élevés et de réduire au maximum les effets de matrice, un plan d'expérience a été mis en place de manière à optimiser conjointement les paramètres de préconcentration et de purification (pH d'extraction, volume et teneur en méthanol de la fraction de rinçage).

L'ensemble de ces travaux font l'objet d'une publication actuellement en préparation, dont l'ultime version figure ci-après.

2. PUBLICATION "COMPARISON BETWEEN CLASSIC REVERSED PHASE AND HYDROPHILIC INTERACTIONS LIQUID CHROMATOGRAPHY FOR FRESHWATER ACIDIC HERBICIDES ANALYSIS"

Vincent Fauvelle, Nicolas Mazzella, François Delmas, Brigitte Delest, Hélène Budzinski

En préparation

Abstract

The separation of acidic herbicides (e.g. 2,4-D, bentazon, dicamba) and acidic metabolites of chloroacetanilides by reversed phase liquid chromatography (RPLC) presents technical difficulties due to the poor affinity of these compounds for the stationary phase. The emerging technique, so-called "hydrophilic interactions liquid chromatography" (HILIC), developed in the early 90s for the separation of polar and ionic compounds might be a good alternative to RPLC. The number of papers dealing with HILIC has increased dramatically over the past ten years. Theoretical papers and real sample applications have been developed for a wide range of molecules, but to our knowledge no study has been conducted on the behaviour of acidic herbicides in HILIC. As matrix effects are the main obstacle to real sample analysis by high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with tandem mass spectrometry *via* an electrospray ionisation interface (ESI-MS²), we paid particular attention to limiting interference by optimizing a solid phase extraction (SPE) step and comparing the results using each type of chromatography. Thus this paper presents a comparison between RPLC and HILIC for the separation of acidic herbicides and acidic metabolites of herbicides. It proposes a rapid and reliable off line SPE-HILIC-ESI-MS² method for the quantification of acidic herbicides in freshwater, with limits of quantifications (LOQs) ranging from 5 to 22 ng L⁻¹.

Keywords: acidic herbicides, HILIC, HPLC-ESI-MS/MS, SPE, water analysis

1. Introduction

Acidic herbicides, such as phenoxy acids, sulfonylureas, triketones, diazinones, benzonitriles and benzoic acids are widely used because they are relatively inexpensive and potent even at low concentrations. Chloroacetanilides (acetochlor, S-metolachlor) are also an important class of herbicides; these may degrade in soils and water to form ethan sulfonic (ESA) and oxanilic (OA) acid metabolites (Kalkhoff *et al.*, 1998). Due to their high solubility and hydrophilicity (Table 1), these acidic herbicides and metabolites are easily transferred into ground water, streams and rivers (Fung et Ikesaki, 1991). Reliable analytical methods are therefore required to quantify their residues in freshwater, even at trace levels (ppt levels). Separation may be performed by gas chromatography (GC) (Swineford et Belisle, 1989; Wang et Huang, 1989; Hodgeson *et al.*, 1994; Nolte *et al.*, 1997; Thompson et Miller, 1998; Quintana *et al.*, 2007) or HPLC (Hoke *et al.*, 1986; Balinova, 1993; Crescenzi *et al.*, 1995; Nouri *et al.*, 1995; Koppen et Spliid, 1998; Laganà *et al.*, 1998; Hogenboom *et al.*, 1999; Steen *et al.*, 1999; Dagnac *et al.*, 2002; Marchese *et al.*, 2002; Carabias-Martinez *et al.*, 2004; Freitas *et al.*, 2004; Moret *et al.*, 2005; Dabrowska *et al.*, 2006; Tran *et al.*, 2007; Rodil *et al.*, 2009). However, GC separation requires a time consuming derivatization step to overcome the low volatility and thermolability of the analytes (Hodgeson *et al.*, 1994; Catalina *et al.*, 2000; Öllers *et al.*, 2001). Thus HPLC, and *a fortiori* RPLC-ESI-MS² is now the method of choice for the quantification of acidic herbicides (Koppen et Spliid, 1998; Hogenboom *et al.*, 1999; Steen *et al.*, 1999; Wells et Yu, 2000; Marchese *et al.*, 2002; Freitas *et al.*, 2004; Rodil *et al.*, 2009; Raina et Etter, 2010).

HILIC is an emerging chromatographic technique for the analysis of a wide range of small polar compounds (Dallet *et al.*, 2000; Yoshida, 2004; de Person *et al.*, 2005; Karlsson *et al.*, 2005; Alpert, 2008; Mora *et al.*, 2008; Esparza *et al.*, 2009; Chirita *et al.*, 2010; Yoshioka *et al.*, 2011). It was first mentioned by Alpert et al in the 90s (Alpert, 1990), and could be roughly represented by a partition mechanism between the organic-rich mobile phase and the pseudo-immobilized aqueous layer at the surface of the stationary phase. To our knowledge, there are no studies available on the HILIC separation of the above named acidic herbicides.

Table 1. Characterization of acidic herbicides

Herbicide	Class	Formula	Solubility (mg L ⁻¹)	Log K _{ow}	pKa
2,4-D	Phenoxy acid	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	23180	-0.83	2.87
Acetochlor ESA	Phenylurea metabolite	C ₁₄ H ₂₀ NO ₅ S	-	-	-
Acetochlor OA	Phenylurea metabolite	C ₁₄ H ₁₉ NO ₄	-	-	-
Bentazone	Diazinone	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	570	-0.46	3.28
Chlorsulfuron	Sulfonylurea	C ₁₂ H ₁₂ ClN ₅ O ₄ S	12500	-0.99	3.4
Dicamba	Benzoïc acid	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	250000	-1.88	1.87
Dichlorprop	Phenoxy acid	C ₉ H ₈ Cl ₂ O ₃	350	2.29	3
Diclofop	Phenoxy acid	C ₁₅ H ₁₂ Cl ₂ O ₄	122700	1.61	3.43
Fenoprop	Phenoxy acid	C ₉ H ₇ Cl ₃ O ₃	140	3.8	2.84
Iodosulfuron	Sulfonylurea	C ₁₃ H ₁₂ IN ₅ O ₆ S	25000	1.59	3.22
Ioxynil	Benzonitrile	C ₇ H ₃ I ₂ NO	3034	2.2	3.1
MCPA	Phenoxy acid	C ₉ H ₉ ClO ₃	29390	-0.81	3.73
Mecoprop	Phenoxy acid	C ₁₀ H ₁₁ ClO ₃	250000	-0.19	3.11
Mesotrione	Triketone	C ₁₄ H ₁₃ NO ₇ S	160	0.11	3.12
Metolachlor ESA	Phenylurea metabolite	C ₁₅ H ₂₂ NO ₅ S	-	-	-
Metolachlor OA	Phenylurea metabolite	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	-	-	-
Metsulfuron-Me	Sulfonylurea	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₆ S	2790	-1.7	3.75
Nicosulfuron	Sulfonylurea	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₆ S	7500	0.61	4.78
Sulcotrione	Triketone	C ₁₄ H ₁₃ ClO ₅ S	1670	-1.7	3.13

To achieve sufficiently low LOQs, a SPE step is needed in acidic conditions (i.e. sample pH = 3) in order to reach the protonated form of the analytes and thus enhance extraction recoveries on polymeric sorbents. However, several studies performed on RPLC reported strong matrix interference under these conditions (Pichon *et al.*, 1996; Jáuregui et Galceran, 1997; Masqué *et al.*, 1998; Steen *et al.*, 1999; Tran *et al.*, 2007) due to 1) the co-extraction of fulvic and humic acids present in real samples during the SPE step, 2) the low retention of the analytes on RPLC resulting in their co-elution with interfering compounds at the start of the gradient. Indeed, matrix interference is identified as the major limitation related to the use of ESI-MS² detection (Taylor, 2005) for real samples analysis.

There are several possibilities for reducing matrix effects: optimization of the sample pH, optimization of the washing step (volume and organic modifier content), reduction of the concentration factor and/or injection volume and the use of an appropriate internal standard (IS) calibration. The use of HILIC may also be a good alternative as it provides a theoretically improved sensitivity due to its better compatibility with the ESI interface (Nguyen et Schug, 2008) and allows a reduced concentration factor and injection volume.

This paper first presents a comparison between RPLC-ESI-MS² and HILIC-ESI-MS² to highlight advantages and drawbacks of both chromatographic techniques. Then a method is set up to optimize the SPE parameters on a selected sorbent in order to find a compromise

between acceptable extraction recoveries and minimized matrix effects. Afterward, the method is validated (calibration linearity, specificity, extraction recoveries and LOQs) and applied to river water analysis to demonstrate its practicality.

2. Experimental

2.1. Chemicals

Formic acid (HCOOH) was purchased from Riedel-de Haën[®], ammonium acetate and triethylamine were provided by Fluka. Organic solvents (methanol -MeOH- and acetonitrile -ACN- HPLC grade) were obtained from Sharlau; and ultrapure water (UPW) with a resistivity of 18 M Ω was produced by a Synergy UV system from Millipore (Billerica, MA, USA). All eluents were filtered through 0.45 μ m regenerated cellulose filters from Whatman GmbH (Versailles, France). The five different polymeric SPE sorbents were purchased from Waters (Oasis HLB[®] 30 μ m, 150 and 200 mg), Macherey-Nagel (Chromabond HR-X[®] 85 μ m, 60 and 200 mg) or offered by JT Baker (SDB-2 40 μ m, 200 mg). Solid phase extractions were performed on Visiprep[™] and Visidry[™] from Supelco.

Water samples were filtered on glass fiber filters (GF/F, 0.7 μ m) provided by Whatman. Analytical standards were purchased from Dr. Erhenstorfer GmbH (Augsburg, Germany): 2,4-D, acetochlor ESA, acetochlor OA, bentazon, chlorsulfuron, dicamba, dichlorprop, diclofop, fenorpop, iodosulfuron, ioxynil, MCPA, mecoprop, mesotrione, metolachlor ESA, metolachlor OA, metsulfuron-methyl, nicosulfuron, sulcotrione, bentazon-d6, dicamba-d3, MCPA-d3, metsulfuron-d3. Their purity was higher than 96.5 %. Monomolecular stock solutions were prepared in ACN (100 μ g mL⁻¹) and stored at -18°C for six months. Working solutions (1.0 μ g mL⁻¹) of acidic herbicide standards, internal standards (bentazon-d6, MCPA-d3, metsulfuron-d3) and surrogate (dicamba-d3) were also prepared in ACN and stored at -6°C for three months.

When applying the method on real samples, 33 other neutral pesticides were monitored using an RPLC method developed by Lissalde et al (Lissalde *et al.*, 2011). These pesticides were: acetochlor, alachlor, atrazine, azoxystrobin, carbaryl, carbendazim, carbofuran, 3-hydroxycarbofuran, chlorfenvinphos, chlorpyrifos, chlortoluron, 1-(3,4-dichlorophenyl)-3-methyl urea (DCPMU, metabolite of diuron), 1-(3,4-dichlorophenyl)urea (DCPU, metabolite

of diuron), desethylatrazine (DEA, metabolite of atrazine), desethylterbuthylazine (DET, metabolite of terbuthylazine), desisopropylatrazine (DIA, metabolite of atrazine), dimethoate, dimetomorph, hexazinon, 1-(4-isopropylphenyl)-3-methyl urea (IPPMU, metabolite of isoproturon), 1-(4-isopropyl phenyl) urea (IPPU, metabolite of isoproturon), isoproturon, linuron, metazachlor, methomyl, metolachlor, metoxuron, pyrimicarb, simazine, terbuthylazine, thiodicarb. Their analytical standards were obtained from Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany) with purity higher than 95.5 %.

2.2. SPE procedures

About 400 mL of water sample was filtered on GF/F and the pH was adjusted to 5 with UPW/HCOOH 90:10 (v/v). The optimized extraction procedure for Oasis HLB was as follows: the 150 mg cartridges were conditioned with 3 mL of methanol and 3 mL of UPW, then 200 mL of filtered, acidified and fortified (100 µL of surrogate working solution) water sample was percolated through them. The cartridges were washed with 1.5 mL of UPW/MeOH 70:30 (v/v) (this fraction will be called F₀), and dried for 30 min under nitrogen flow. The elution step was performed with 5 mL of MeOH, the collected extract was evaporated to dryness under a nitrogen stream and the reconstitution of the sample was obtained with 2940 µL of the initial HPLC eluent mixture and 60 µL of the internal standards working solution.

2.3. HPLC system and columns

The HPLC system was a Dionex Ultimate 3000 (solvent rack SRD-3600 6 degasser channels, DGP-3600 M pump, WPS-3000 TSL Micro autosampler, TCC-3100 HP 1xRH 2P-6P thermostated column oven). Reversed phase separation for neutral and acidic pesticides was performed with a Phenomenex Gemini-NX C₁₈ 3 µm, 110 Å, 100 mm x 2 mm protected by a SecurityGuard cartridge Gemini-NX C₁₈ 4 mm x 2.0 mm. HILIC separation was carried out using a Macherey-Nagel zwitterionic Nucleodur HILIC 3 µm, 100 Å, 125 mm x 2 mm protected by a Nucleodur HILIC 3 µm, 100 Å, 8 mm x 3 mm, security guard column. HPLC methods were developed for RPLC and HILIC. Their respective gradient programs and eluent compositions are detailed in Table 2.

Table 2. Gradient of solvent compositions

RPLC			HILIC			
Time (min)	TEA 0.1 % (%)	ACN (%)	Time (min)	Ammonium acetate 200 mM (%)	ACN (%)	MeOH (%)
0	95	5	0	5	95	0
3	95	5	3	5	95	0
4	85	15	4	5	0	95
9	50	50	5	5	95	0
10	20	80	9	5	95	0
11.5	20	80				
12.5	95	5				
15	95	5				

2.4. ESI-MS² equipment and parameters

Detection was performed with an ABSciex API 2000 tandem mass spectrometer *via* an ESI interface operating in negative ionization mode. The mass acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode, therefore two transitions were monitored for all analytes, and optimised in terms of declustering potential (DP), collision energy (CE) and cell exit potential (CXP). Transitions, DP, CE and CXP are listed in Table 3 for acidic compounds, and are available elsewhere for neutral pesticides (Lissalde *et al.*, 2011).

2.5. Design of experiment

A composite design of experiment (DOE) was used to optimize the SPE step. Three parameters (extraction pH, proportion of MeOH in F_0 , volume of F_0) with five different levels were considered. Data analysis and surface responses were performed with NemrodwTM software (LPRAI, France).

2.6. Study area and characterisation of river water

The Leyre river is the most important tributary of Arcachon Bay, a lagoon on the south west Atlantic coast of France (i.e. 77 % freshwater input, $20 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ median flow). It drains about 2000 km² occupied by pine forest (84 %) and agriculture (13 %, mainly maize). The watershed of the Pontails stream ($0.2 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ median flow) hosts more specific uses, including a landfill located a few hundred meters upstream from the sampling site. Both rivers are very close and show similar chemical characteristics: the pH is less than 7; conductivity

ranges from 150 to 300 $\mu\text{S cm}^{-1}$; cumulated concentrations of Ca^{++} and Mg^{++} are around 10 mg L^{-1} ; nitrate does not exceed 5 mg L^{-1} ; dissolved organic carbon is in the range of 5-10 mg L^{-1} and suspended matter is measured in the range of 3-10 mg L^{-1} . Water from these rivers was used as complex matrices in this study (optimization of SPE parameters, evaluation of matrix effects, and validation of the method).

Table 3. SRM transitions and ESI-MS² conditions

Herbicide	Quantitative	DP (V) ^a	CE (V) ^b	CXP (V) ^c	Qualitative	DP (V) ^a	CE (V) ^b	CXP (V) ^c
2,4-D	219>161	-20	-20	-18	219>125	-20	-34	-18
Acetochlor ESA	314>121	-30	-28	-6	314>80	-30	-56	-4
Acetochlor OA	264>146	-30	-12	-6	264>129	-30	-32	-6
Bentazone	239>132	-30	-35	-12	239>175	-30	-25	-15
Chlorsulfuron	356>139	-20	-46	-12	356>107	-20	-74	-12
Dicamba	219>175	-20	-6	-16	219>145	-20	-6	-16
Dichlorprop	233>161	-20	-14	-16	233>125	-20	-36	-16
Diclofop	325>253	-20	-20	-24	325>71	-20	-25	-8
Fenoprop	269>197	-20	-18	-18	269>161	-20	-40	-18
Iodosulfuron	506>139	-20	-50	-12	506>308	-20	-40	-30
Ioxynil	370>127	-20	-60	-10	370>215	-20	-30	-20
MCPA	199>141	-20	-20	-15	199>155	-20	-10	-15
Mecoprop	213>141	-20	-20	-8	213>71	-20	-18	-15
Mesotrione	338>291	-10	-14	-24	338>212	-10	-42	-20
Metolachlor ESA	328>80	-35	-65	-6	328>121	-35	-30	-6
Metolachlor OA	278>206	-20	-12	-18	278>174	-20	-20	-16
Metsulfuron-Me	380>139	-20	-20	-12	380>214	-20	-10	-20
Nicosulfuron	409>154	-20	-30	-14	409>227	-20	-18	-20
Sulcotrione	327>291	-20	-20	-26	327>212	-20	-40	-20
Bentazon d6	245>132	-40	-36	-6				
Dicamba d3	222>178	-20	-6	-8				
MCPA d3	202>144	-20	-20	-15				
Metsulfuron d3	383>142	-40	-50	-4.5				

^a: declustering potential

^b: collision energy

^c: cell exit potential

3. Results and discussion

3.1. Optimization and comparison of RPLC and HILIC methods for acidic herbicide separation

As GC involves additional steps in the sample preparation (Hodgeson *et al.*, 1994; Catalina *et al.*, 2000; Öllers *et al.*, 2001), we focused on HPLC by comparing a conventional technique (RPLC) with an emerging technique for the analysis of small organic molecules (HILIC) with the aim of achieving satisfactory retention, separation and peak height.

3.1.1. Optimization of the RPLC method

Due to the poor retention of acidic herbicides on conventional RPLC, acidification of the mobile phase together with post column base addition (Carabias-Martinez *et al.*, 2004; Freitas *et al.*, 2004) or the use of an ion-pairing agent (Balnova, 1996) are common. In our work, the RPLC gradient was developed using a large proportion of water at the beginning (95 % of aqueous buffer for 3 min) and, as ammonium acetate did not show acceptable separation until 20 mM, a strong ion pairing agent was chosen (triethylamine -TEA- 0.1 %, 7.4 mM) (Balnova, 1996) to reach satisfying chromatographic performance.

3.1.2. Optimization of HILIC method

As first detailed by Alpert *et al.* (Alpert, 1990), a high proportion of organic modifier in the mobile phase (i.e. 60 to 98 %) is required in HILIC, which is essentially a partition mechanism between the organic-rich mobile phase and the immobilized aqueous layer at the surface of the stationary phase (Alpert, 1990; Chirita *et al.*, 2011). Although HILIC interactions remain less understood than RPLC, more and more work is being done to determine the mechanisms involved (e.g. dipole-dipole, hydrogen bonding, and electrostatic interactions, partition and/or adsorption mechanisms) and to better understand their relative importance (Guo et Gaiki, 2005; Hemström et Irgum, 2006; Alpert, 2008; Bicker *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2008; Nguyen et Schug, 2008; Chirita *et al.*, 2010). We chose a zwitterionic silica-based stationary phase column (i.e. Macherey Nagel Nucleodur HILIC), which should show improved retention of ionic compounds (Guo et Gaiki, 2005; Wade *et al.*, 2007; Vikingsson *et al.*, 2008; Chirita *et al.*, 2010) compared to a bare silica column. The proportion of organic modifier (ranging from 80 to 95 %), ammonium acetate concentration buffer (from 20 to 200 mM), mobile phase flow rate (from 50 to 600 $\mu\text{L min}^{-1}$) and oven temperature (from 20 to 50 °C) were optimized.

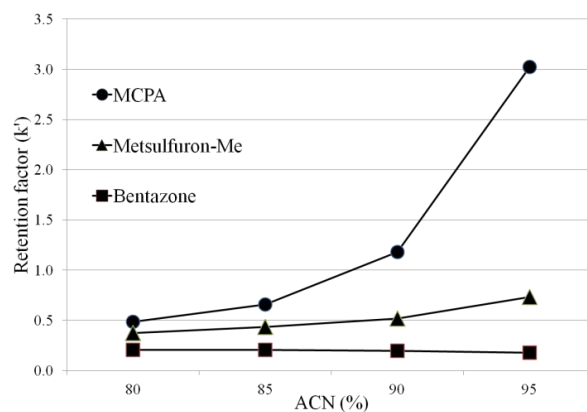


Figure 16. Influence of ACN proportion on the retention factor in HILIC mode, ammonium acetate buffer 200 mM, 200 $\mu\text{L min}^{-1}$.

In accordance with our results, recent studies (Guo et Gaiki, 2005; Chirita *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2010; Heaton *et al.*, 2011) reported higher retention factors (k') with an amount of ACN close to 95 %. Here, the k' increased from 0.5 to 3 with increasing ACN for the most retained compound (Figure 16). Depending on the analyte, the addition of MeOH to the initial isocratic elution increased sensitivity by a factor of two to ten. This gain in peak height could be explained by the protic nature of MeOH and its lower surface tension (Kebarle et Tang, 1993) which could facilitate ionisation at the ESI interface and therefore enhance the sensitivity of detection. In agreement with the literature (Liu *et al.*, 2008; Chirita *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2010), small changes in elution order and a k' decrease of about 20 % for all compounds were also observed with the addition of MeOH. No significant gain in k' was observed for any compound by increasing the ammonium acetate concentration buffer (20 to 200 mM) or oven temperature (20 to 50 °C). Consequently, the buffer concentration and column oven temperature were maintained at 20 mM and 25 °C, respectively. Lastly, an acceptable compromise between height equivalent to the theoretical plate and peak width at half-height (HEPT and δ , Table 4) and short analysis time (less than 9 min, Table 2) was found with a 200 $\mu\text{L min}^{-1}$ mobile phase flow rate.

Table 4. Chromatographic performances of RPLC and HILIC methods for selected herbicides

Herbicide	IDLs (pg injected)		HEPT (μm)		δ (sec)	
	RPLC	HILIC	RPLC	HILIC	RPLC	HILIC
2,4-D	1.6	0.26	0.50	22	2.3	7.3
Bentazon	0.9	0.1	1.24	95	3.0	5.0
Chlorsulfuron	5.8	0.15	0.63	60	2.3	5.2
Dicamba	83	1.5	1.75	25	2.9	6.3
Dichlorprop	1.7	0.25	0.43	21	2.2	6.1
Diclofop	11	0.25	0.27	21	2.2	6.4
Fenoprop	2.4	0.54	0.33	29	2.1	5.7
Iodosulfuron	0.7	0.24	0.46	80	2.3	5.4
loxynil	1.3	0.09	0.73	90	3.0	5.1
MCPA	2.8	0.31	0.58	21	2.4	8.4
Mecoprop	8.8	0.82	0.46	23	2.3	7.5
Mesotrione	1.5	0.1	3.01	61	3.3	6.1
Metsulfuron-Me	1.5	0.1	0.81	52	2.4	5.3
Nicosulfuron	18	0.16	1.04	25	2.5	6.7
Sulcotrione	56	0.61	1.47	49	2.5	6.2

3.1.3. Comparison of RPLC and HILIC methods

The two methods were then compared for parameters such as instrumental detection limits (IDLs) and column HETP (Table 4). The RPLC method showed lower δ and HEPT and then higher efficiency (factor 10 to 200), while the HILIC method exhibited lower IDLs (expressed in pg injected) relative to higher organic modifier content in the mobile phase (Nguyen et Schug, 2008; Qin *et al.*, 2008; Mitchell *et al.*, 2009). In fact, the desolvation and ionization processes in the ESI interface are facilitated when using a large amount of organic modifier in the mobile phase. The low surface tension of ACN (half that of water ; Kebarle et Tang, 1993) and its higher vapor pressure than volatility allows the formation of smaller droplets at the ESI interface and consequently improves desolvation as detailed by Nguyen et al (2008). HILIC also provided both faster analysis due to the short equilibration time after the addition of MeOH and higher lifetime due to the lower backpressure (i.e. larger amount of ACN in the mobile phase and lower mobile phase flow rate). Therefore, the two chromatographic techniques offer advantages and drawbacks that must be considered according to, on the one hand, the type of detection and quality of separation needed, and on the other hand, the analysis time and IDLs required. In our case, the use of ESI-MS² detection in SRM mode allowed a quasi univocal identification of the analytes. Consequently, lower IDLs and analysis times would be preferred to higher efficiency and k' . However, both retention and separation must be sufficient for insuring no, or at least limited, co-elution with interfering compounds (Mazzella *et al.*, 2009; Lissalde *et al.*, 2011).

Taking into account potential matrix effects (Crescenzi *et al.*, 1995; Pichon *et al.*, 1996; Bossi *et al.*, 2002; Taylor, 2005) occurring during real sample analyses (water, sediment, biological samples), a lower injection volume may reduce the interfering phenomena during ionization. In this way we note that, due to lower IDLs, the HILIC injection volume is ten times lower than the RPLC one (5 versus 50 μL).

In summary, RPLC provides improved chromatographic efficiency while HILIC shows higher sensitivity due to its better compatibility with the ESI interface. The unambiguous quantification provided by the tandem mass spectrometer in SRM allows a focus on sensitivity at the expense of chromatographic efficiency. Knowing that matrix effects are the Achilles' heel of HPLC-ESI-MS² (Taylor, 2005) for environmental analysis, this significant gain in peak height can result from the reduction of matrix effects due to a reduced injection volume and/or concentration factor during the SPE step.

3.2. Optimization of the solid phase extraction step

SPE development began in the 1980s as an alternative to liquid-liquid extraction for the purification and trace enrichment of organic contaminants in environmental samples. In chronological order, bonded silica (Hoke *et al.*, 1986; Wells et Michael, 1987; Swineford et Belisle, 1989), graphitized carbon black (Nouri *et al.*, 1995; Crescenzi *et al.*, 1996; Nolte *et al.*, 1997; Laganà *et al.*, 1998; Steen *et al.*, 1999), and polymeric sorbents (Hodgeson *et al.*, 1994; Pichon *et al.*, 1996; Koppen et Spliid, 1998; Steen *et al.*, 1999; Moret *et al.*, 2005; Tran *et al.*, 2007; Rodil *et al.*, 2009) were chosen in previous studies for extracting polar acidic pesticides. It appeared that polymeric sorbents with high specific surface area (about 1000 m^2 per gram) provided better recoveries for acidic herbicides even at neutral extraction pH (Pichon *et al.*, 1996).

Therefore, two polymeric sorbents were compared: J.T. Baker SDB2 (conventional polystyrene-divinylbenzene -PS-DVB-, 1150 m^2 per gram) and Oasis HLB (divinylbenzene-co-N-vinylpyrrolidone, 800 m^2 per gram). The recoveries of the 19 acidic herbicides were evaluated on both sorbents using drinking water at neutral extraction pH (Figure 17). The better results obtained on Oasis HLB may be attributed to the polar groups providing better wettability and stronger interactions with our analytes of interest (Öllers *et al.*, 2001; Freitas *et al.*, 2004; Mazzella *et al.*, 2007). Indeed, in comparison to conventional PS-DVB sorbents,

the hydrophilic-lipophilic balance of Oasis HLB provided by N-vinylpyrrolidone enables stronger lone pair interactions with acidic compounds (Dias et Poole, 2002).

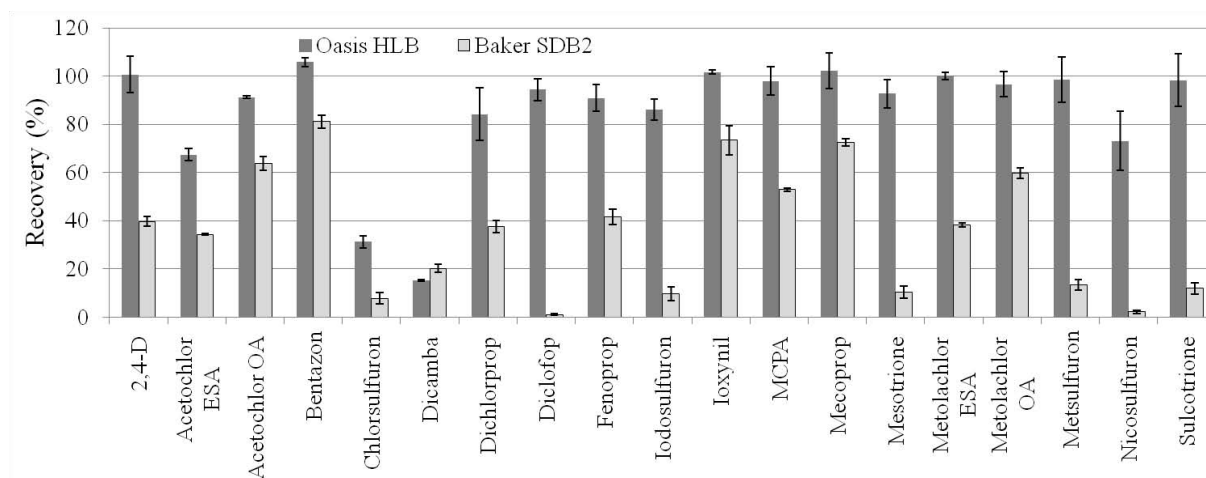


Figure 17. Extraction recoveries on divinylbenzene-co-N-vinylpyrrolidone (Oasis HLB) and PS-DVB (J.T. Baker SDB2). 200 mL of drinking water at neutral pH, 0.2 $\mu\text{g L}^{-1}$ spiked level, 3 cc cartridges containing 200 mg of sorbent, n=3.

To overcome the poor retention of some anionic compounds such as dicamba and chlorsulfuron, acidification of the sample to obtain protonated forms of the analytes may be a good alternative (Öllers *et al.*, 2001; Freitas *et al.*, 2004). However, previous studies have reported strong interference under these conditions (Pichon *et al.*, 1996; Jáuregui et Galceran, 1997; Masqué *et al.*, 1998; Steen *et al.*, 1999; Tran *et al.*, 2007). Such interference may be explained by the co-extraction of humic and fulvic acids, mostly in real water samples. The ESI-MS² detection can be affected by matrix effects, which consist of a competition for ionisation at the ESI interface (i.e. ion suppression). Several solutions are common to overcome these effects: use of appropriate IS calibration, improvement of purification, reduction of the concentration factor (Lissalde *et al.*, 2011) and injection volume. In addition to IS calibration, we first optimized the purification step by using a design of experiment (DOE). The optimized parameters were a pH between 3 and 7 during the percolating phase, a MeOH proportion between 15 and 75 % in F₀ and an F₀ volume between 1 and 4 mL. The objective of this experiment was 1) to maximize extraction recoveries while improving the purification of the sample and 2) to compare the sensitivity to matrix effects of the RPLC and HILIC methods.

A first DOE was set up to study the influence of the above three SPE parameters on extraction recoveries using a clean matrix (i.e. drinking water) to avoid any matrix interference. Samples were analysed using both RPLC and HILIC methods and showed analogous results, presented in Figure 18.

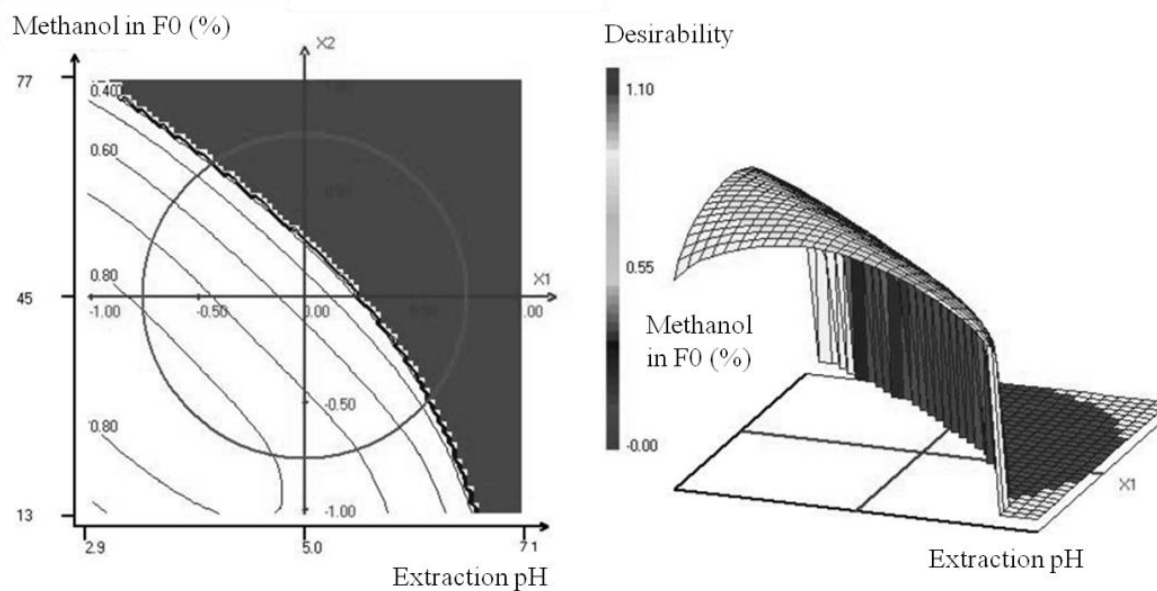


Figure 18. Surface responses (two dimensions on the left and three dimensions on the right) for the recoveries (spiked drinking water) obtained with both RPLC and HILIC methods (F_0 volume set at 1.5 mL).

A second DOE was then established to assess the intensity of matrix effects under the same SPE parameters. In this case, desirability was assessed by the peak intensities measured on standard additions made to extracts from a real matrix (i.e. freshwater, see section 2.6). The surface responses of RPLC and HILIC are presented in the Figure 19 and although they have similar trends, the shapes of the responses are significantly different. Due to the limitations of the graphical representation and for clarity, we chose not to represent the influence of the F_0 volume since it appears to be the least significant factor and it is well correlated with the proportion of MeOH in the F_0 .

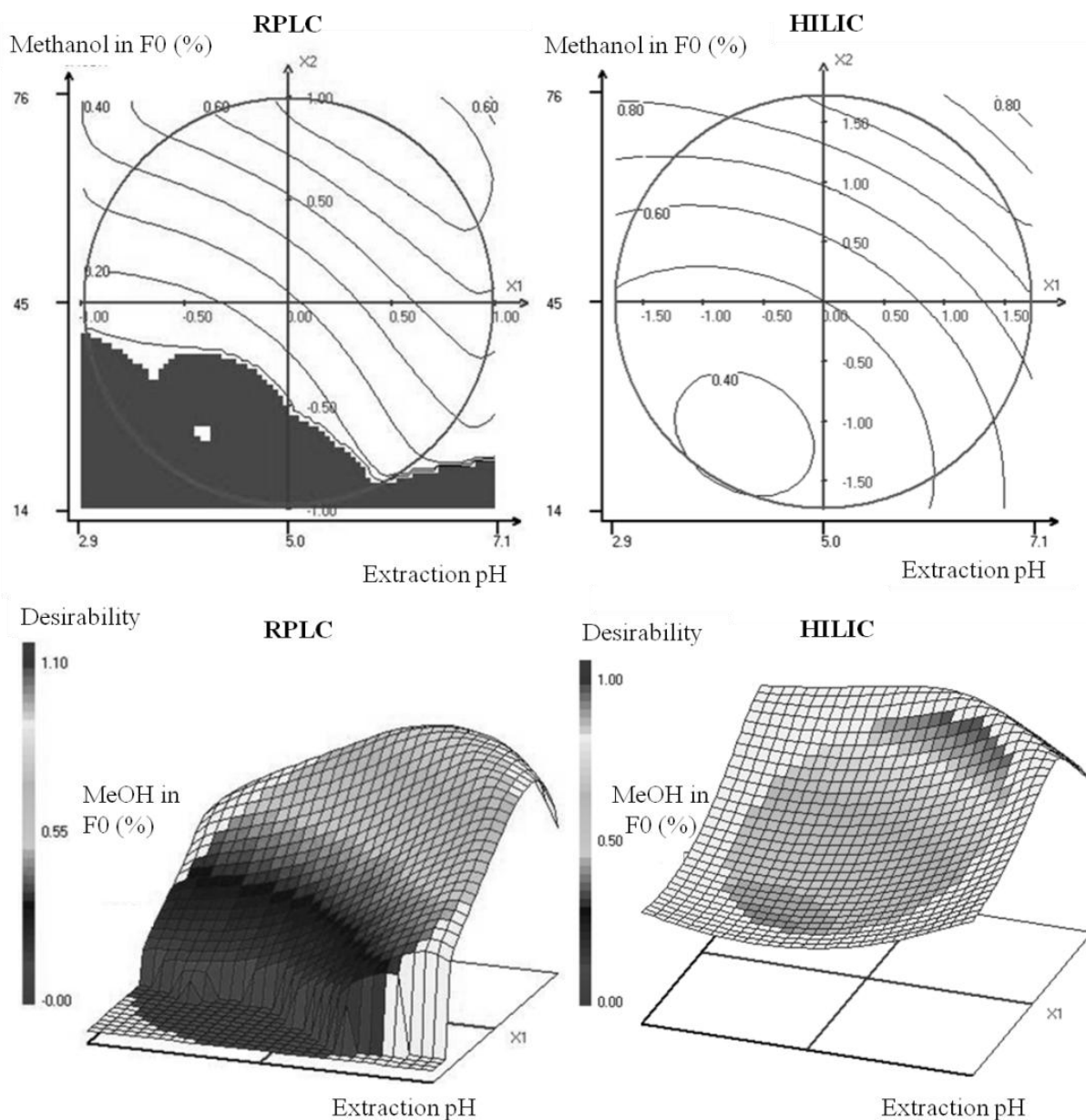


Figure 19. Surface responses (two dimensions on top and three dimensions on the bottom) of either RPLC or HILIC for the matrix effects study (standard additions of freshwater, F_0 volume set at 2.7 mL).

Both studies provided different optimal conditions (Table 5): a low extraction pH and a small F_0 volume containing little MeOH would improve extraction recoveries, whereas a neutral extraction pH together with a high F_0 volume containing a large amount of MeOH would minimize matrix interferences.

While the influence of SPE parameters on recoveries in clean matrix was comparable for both chromatographic columns, the study of the two and three dimension surface responses

for standard additions on complex matrix conducted on RPLC and HILIC showed significant differences. Figure 19 highlights these differences in sensitivity to matrix interference in real samples. Indeed, desirability for all the analytes of interest was always higher than 40 % for HILIC separation, even at low extraction pH and low MeOH in F_0 , which showed a lower sensitivity to matrix effects in comparison to the RPLC technique.

Table 5. Results of designs of experiment

	Extraction pH	F_0^1 volume (mL)	MeOH in F_0 (%)
Extraction recoveries	3.4	1.5	28
RPLC matrix effects	6.0	2.7	71
HILIC matrix effects	6.1	2.8	68
Selected conditions	5.0	1.5	30

1: Washing fraction

Combining the response surfaces, a compromise was found to minimize matrix effects while maximizing extraction recoveries (Table 5). The compromise between high SPE recoveries and low matrix effects was more satisfying when followed by a separation on HILIC because of the lower variability observed in the surface responses. This result can be explained at least partially by the ten times lower injection volume for the HILIC method.

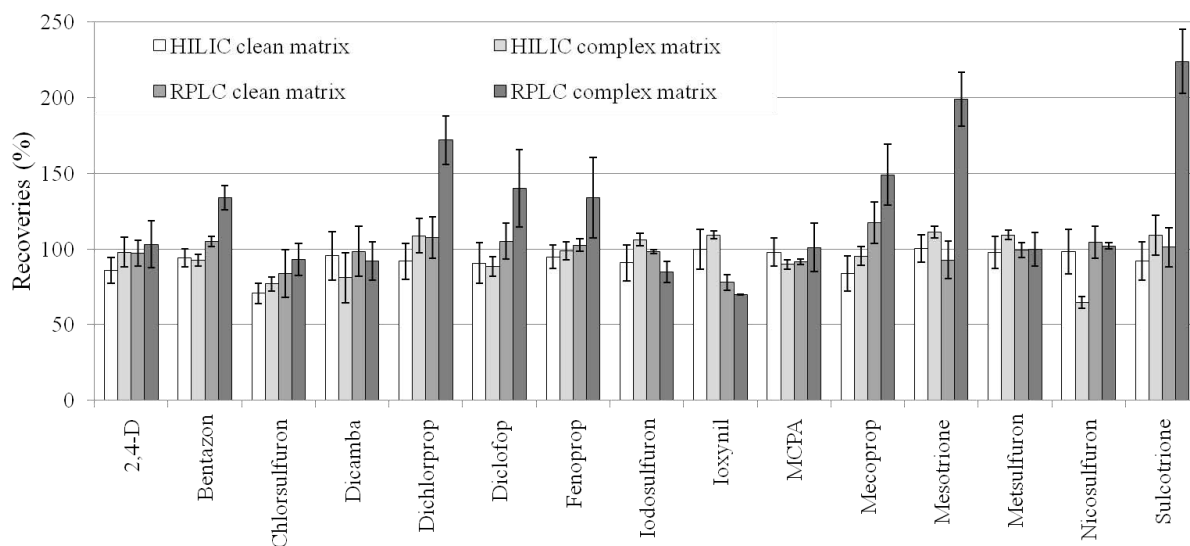


Figure 20. Extraction recoveries for clean and complex matrix (drinking water and freshwater respectively) on HILIC and RPLC under selected SPE conditions (see Table 5, selected herbicides, n=5).

The optimized SPE conditions were then applied and compared using both chromatographic methods and types of matrix (RPLC versus HILIC, clean versus complex

matrix, Figure 20). As we expected, good recoveries were obtained on clean matrix for each method and for all compounds, even for the most polar and stronger acids (e.g. dicamba). Figure 20 also suggests that the HILIC method is not impacted by matrix effects except for nicosulfuron, whereas RPLC shows strong interference (mostly signal enhancement) due to more complex internal standard calibration and the use of several other deuterated internal standards, if available.

3.3. Method validation

The method was validated according to the French standard (NF T90-210) recommendations. The validation consisted of defining the range of linearity of the calibration, then evaluating the specificity of recoveries on clean and complex matrices, and finally studying the LOQs on the matrix of interest (freshwater, see section 2.6). The validation data are summarized in Table 6.

Table 6. Results of the HILIC method validation. Associated relative standard deviations between brackets (n=5)

Herbicide	Specificity		Extraction recoveries (%)		LOQ (ng L ⁻¹)
	Drinking water	Freshwater	Drinking water	Freshwater	Freshwater
2,4-D	0.96 (1)	0.95 (4)	86 (10)	98 (10)	10 (13)
Acetochlor ESA	1.03 (4)	0.98 (3)	107 (13)	100 (18)	21 (14)
Acetochlor OA	1.03 (3)	1.09 (3)	98 (25)	102 (17)	10 (16)
Bentazon	0.96 (1)	0.95 (2)	94 (6)	92 (4)	11 (11)
Chlorsulfuron	0.73 (6)	0.76 (3)	71 (9)	77 (6)	10 (17)
Dicamba	0.93 (3)	0.96 (1)	95 (17)	81 (20)	17 (13)
Dichlorprop	0.96 (2)	1.03 (2)	92 (13)	109 (10)	11 (9)
Diclofop	0.93 (4)	0.77 (5)	91 (15)	88 (7)	9 (16)
Fenoprop	0.96 (3)	0.99 (2)	95 (8)	99 (6)	10 (7)
Iodosulfuron	1.04 (2)	1.03 (2)	91 (13)	106 (4)	12 (10)
loxynil	0.95 (2)	1.08 (3)	100 (13)	109 (2)	12 (8)
MCPA	0.96 (1)	0.96 (2)	98 (9)	90 (3)	6 (11)
Mecoprop	0.99 (1)	0.88 (4)	84 (14)	95 (6)	6 (15)
Mesotrione	1.05 (3)	0.98 (2)	100 (9)	111 (4)	10 (15)
Metolachlor ESA	1.05 (2)	0.98 (3)	114 (24)	101 (7)	13 (22)
Metolachlor OA	1.03 (2)	0.98 (3)	105 (26)	90 (13)	5 (16)
Metsulfuron-Me	1.00 (2)	0.94 (2)	98 (11)	109 (3)	12 (16)
Nicosulfuron	1.03 (2)	1.01 (4)	98 (15)	64 (6)	15 (22)
Sulcotrione	1.02 (3)	0.96 (2)	92 (14)	109 (12)	22 (16)

Calibration linearity was validated with the analysis of variance (ANOVA, $p=0.01$) of five independent 6-point calibrations (1 and 50 ng mL^{-1}). The specificity was evaluated by plotting measured values with the expected values of standard additions performed in the matrix of interest (drinking water and freshwater) at five different levels ($n=2$ per level). Then the slope and y-intercept of these regressions, which should be close to one and zero respectively, were validated using a T-test ($p=0.01$). Table 6 mentions only the specificity slope value, since all the y-intercepts were very close to zero. Recoveries were studied at two spiking levels (0.1 and 0.6 $\mu\text{g L}^{-1}$, $n=5$) in both drinking water and freshwater. The LOQs were validated by comparing the measured values (± 2 standard deviations, $n=5$) with the spiked values ($\pm 60\%$, which is generally the maximum permissible error accepted for analytical methods of LOQ level) using an F-test. The validation results (Table 6) support the reliability of the method (recoveries $> 70\%$) and its relevance to current levels of LOQs required for environmental analysis (a few ng per liter).

3.4. Application for the analysis of anionic herbicides in river water

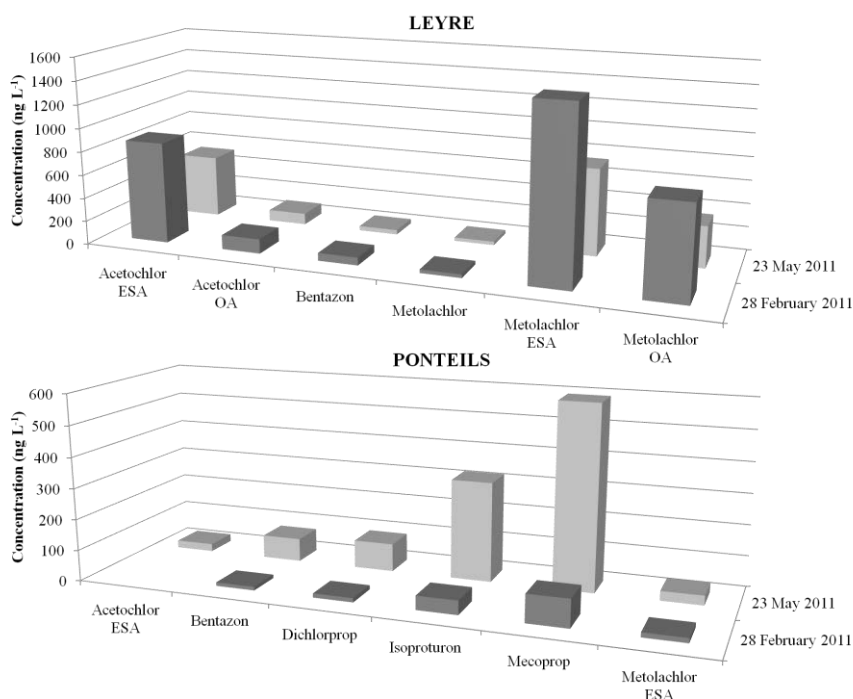


Figure 21. Concentrations measured in two rivers (Ponteils and Leyre) in winter and spring.

In order to demonstrate its practicality and the relevance of the selected acidic herbicides and metabolites, the method was applied to freshwater sampled from two

tributaries of Arcachon Bay (Atlantic coast of France, Pontails and Leyre rivers), in winter and spring. Thirty three neutral pesticides including chloroacetanilides (S-metolachlor, acetochlor) and phenylureas (diuron, isoproturon) were also quantified using an RPLC method described by Lissalde et al (Lissalde *et al.*, 2011).

Figure 6 illustrates the mixture of neutral and acidic pesticides found in each stream and therefore the complementarity of both RPLC and HILIC techniques to provide a more reliable picture of the contamination. Furthermore, it should be noticed that the highest concentrations were found for acidic herbicides (concentration levels of chloroacetanilide metabolites can be fifty times higher than those measured for the parent compounds), which demonstrated the relevance of the selected acidic herbicides for environmental analyses (Kalkhoff *et al.*, 1998).

4. Conclusion

This work presents a comparison between a conventional (RPLC) and an emerging (HILIC) chromatographic technique for acidic herbicides and metabolites analysis. Despite a better chromatographic efficiency, RPLC was found to be less sensitive and more inclined to matrix effects in comparison to HILIC. The optimization of the SPE step using designs of experiment allowed a good compromise between sufficient extraction recoveries and low matrix effects for all compounds. The off line SPE-HILIC-ESI-MS² method was then validated (recoveries higher than 64 %, LOQs ranging from 5 to 22 ng L⁻¹) and applied to river water analysis. The real field application, which included the analysis of neutral compounds (including the parent compounds of chloroacetanilide metabolites), showed that 1) acidic herbicides are detected more frequently, and 2) chloroacetanilide metabolites are always quantified at higher levels than the parent compounds (S-metolachlor, acetochlor). This demonstrates the emergence of acidic compounds and the complementarities of both RPLC and HILIC techniques to obtain a more accurate picture of pesticide contamination in rivers.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Region Aquitaine, FEDER, and the ANR RIPOST for their financial support and Muriel Bonnet and Maryse Boudigues for their technical support.

3. CONCLUSION PARTIELLE

Malgré ses nombreux avantages (traitement simplifié de l'échantillon en amont), la technique HPLC-ESI-MS² peut être affectée par des effets matriciels qui viennent ternir la qualité de l'analyse (Taylor, 2005). L'importance de ces effets de matrice dépend principalement de la teneur de l'échantillon en substances humiques, dont l'extraction est privilégiée lors de l'étape de SPE en conditions acides sur des polymères hydrophobes.

Le défi de ce développement analytique a donc consisté à atténuer les effets matriciels tout en maintenant des LOQ compatibles avec des analyses environnementales (quelques dizaines de ng.L⁻¹). Pour répondre à ces attentes, des efforts particuliers ont été engagés afin d'optimiser d'une part l'étape de SPE, et d'autre part de confronter différentes techniques chromatographiques en termes de séparation et de sensibilité.

En premier lieu, l'optimisation des paramètres SPE par un plan d'expérience a permis de minimiser la co-extraction d'acides humiques en amont, et en deuxième lieu l'adoption de la technique chromatographique HILIC (comparativement à la technique RPLC) a donné la possibilité de réduire le facteur de concentration grâce à des limites de quantification instrumentales extrêmement faibles (jusqu'à cent fois inférieures à celles observées en RPLC). Ainsi, une nouvelle méthode off line SPE-HILIC-ESI-MS² rapide et robuste a été validée selon les recommandations de la norme NF T90-210 pour l'analyse de 19 herbicides acides dans les eaux de rivière, en vue d'une application dans les tributaires du Bassin d'Arcachon.

Chapitre III.

Suivi de la contamination en pesticides dans les tributaires du Bassin d’Arcachon

Liste des tableaux

Tableau 3. Caractéristiques et localisation des neuf points de prélèvements.....	95
Tableau 4. Stratégie d’échantillonnage.....	95

Liste des figures

Figure 22. Localisation des neuf tributaires majoritaires du Bassin d’Arcachon.	94
Figure 23. Suivi de la contamination en 33 pesticides neutres dans les neufs principaux tributaires du Bassin d’Arcachon. Les astérisques marquent les dates auxquelles les POCIS ont été perdus ou inexploitable et remplacés par un prélèvement ponctuel.	100
Figure 24. Suivi de la contamination en 21 herbicides acides dans les neuf principaux tributaires du Bassin d’Arcachon. Les astérisques marquent les dates auxquelles les données sont inexploitable, hormis pour le glyphosate et l’AMPA.....	105
Figure 25. Proportion de molécules acides et neutres en nombre de molécules dosées (a) et en quantité mesurée (b).....	106
Figure 26. Suivi de la contamination des sédiments des neuf principaux tributaires du Bassin d’Arcachon par les pesticides. L’astérisque marque une absence d’échantillonnage (événement de crue).....	111
Figure 27. Précipitations au Cap Ferret et à Bordeaux pendant la période d’étude (source Météo France).....	113
Figure 28. Variation du niveau des nappes phréatiques autour du Bassin d’Arcachon entre le 22 mars 2010 et le 12 décembre 2011 (source ADES, codes BSS associés aux sites).....	113
Figure 29. Débit moyen mensuel de la Leyre pendant la période d’étude (source DREAL Aquitaine).	113
Figure 30. Analyse en composantes principales de la contamination cumulée de chaque cours d’eau et des paramètres hydrologiques majeurs (hauteur de la nappe phréatique à Lanton, précipitations à Lège-Cap-Ferret, débit de la Leyre) entre mars 2010 et décembre 2011 (logiciel XLSTAT).	114
Figure 31. Mapping de la contamination sur le ruisseau du Pontails.	116
Figure 32. Analyse linéaire discriminante des profils de contamination des neuf tributaires du Bassin d’Arcachon. Projection des couples date-site groupés par site (a) et projection des molécules les plus discriminantes (b). Eigen values : 0,803 ; 0.605 (logiciel R).	117
Figure 33. Analyse linéaire discriminante des profils de contamination des six cours d’eau non différenciés dans la première analyse. Projection des couples date-site groupés par site (a) et projection des molécules les plus discriminantes (b). Eigen values : 0,828 ; 0,643 (logiciel R).	118
Figure 34. Location of the two sampling sites on the Leyre River watershed.	123
Figure 35. Concentrations of the two chloroacetanilide herbicides and their metabolites under study at the downstream site of the Leyre River (period from March 2010 to July 2011, timeweighted average concentrations over 1 month for the parent compounds and spot measurements for the metabolites; Crosses stand for spot samples when POCIS were lost).	129

Figure 36. Results of the ecotoxicological tests of the two herbicides (a) and their metabolites (b) on the growth of a clone of <i>Nitzschia nana</i> . The stars (*) indicate the LOEC.	132
Figure 37. Results of the ecotoxicological tests of S-metolachlor (a) and acetochlor (b) on the growth of an upstream (Δ) and a downstream (O) population (3 clones each).....	133
Figure 38. EC ₅₀ values for the up and downstream populations of <i>Nitzschia nana</i> (bars indicate the 95 % confidence interval).....	134
Figure 39. Results of the ecotoxicological tests of S-metolachlor (a) and acetochlor (b) on an upstream (Δ) and a downstream (O) diatom community.....	134
Figure 40. EC ₅₀ values of the two herbicides for the up and downstream diatom communities (bars indicate the 95 % confidence interval).....	135
Figure 41. Composition of the diatom communities used for the ecotoxicological tests. Only the 15 most abundant species are represented.	137
Figure 42. Localisation des points de prélèvements à l'intérieur du Bassin d'Arcachon.	139
Figure 43. Comparaison des concentrations en métolachlore simulées avec le modèle de dissipation développé par l'Ifremer (Plus <i>et al.</i> , 2006) et mesurées par EPOC-LPTC à l'intérieur du Bassin d'Arcachon.....	140

1. AVANT PROPOS

Le deuxième objectif de ce travail de thèse a consisté à suivre la contamination en pesticides dans les tributaires du Bassin d’Arcachon en appliquant les méthodes analytiques développées au laboratoire, dont la méthode d’analyse des herbicides acides présentée dans le chapitre précédent.

Ce suivi s’inscrit dans le cadre du programme régional OSQUAR et est également soutenu par un financement européen FEDER et le projet ANR RIPOST (Recherche Interdisciplinaire sur la Problématique de l’Ostréiculture dans le Bassin d’Arcachon : approches *in situ* et expérimentales, 2010-2013). Ce projet fait suite au programme régional Ascobar (2008-2009) dans lequel un suivi partiel de la contamination en pesticides avait confirmé et approfondi les conclusions mentionnées par l’Ifremer en 2007 (Auby *et al.*). Les recherches proposées ensuite dans OSQUAR visaient donc à engager une action globale pluridisciplinaire pour multiplier voire croiser différents angles de vue autour de la problématique de l’ostréiculture.

La contamination de neuf tributaires d’intérêt du Bassin d’Arcachon est tout d’abord détaillée puis interprétée de manière à en tirer les grandes tendances spatiales et saisonnières. La base de données (*cf.* Annexes 16 à 24) a ensuite été utilisée pour alimenter des travaux en collaboration avec d’autres équipes ayant des domaines de compétences complémentaires, tels que l’écotoxicologie ou la modélisation de la dispersion de la contamination. Par conséquent, les travaux menés par Vincent Roubéix (Irstea, équipe Carma) concernant la toxicité des contaminants majoritaires sur le périphyton benthique autochtone (Roubéix *et al.*, 2012), ainsi que des premiers résultats de modélisation de la contamination en pesticides à l’intérieur de la lagune (collaboration Martin Plus -Ifremer- et Angel Belles -EPOC-LPTC-) sont présentés.

2. CONTAMINATION DES TRIBUTAIRES DU BASSIN D'ARCACHON : DONNEES 2010-2011

2.1. Plan d'échantillonnage

La stratégie d'échantillonnage de cette étude a été définie de manière à : 1) caractériser les principaux apports continentaux en pesticides vers le Bassin d'Arcachon ; 2) suivre les cours d'eau susceptibles de subir une contamination importante et/ou atypique pour mettre en évidence de potentiels risques toxiques localisés ; 3) améliorer la représentativité de l'information récoltée ; et 4) suivre à la fois le compartiment dissous (analyse d'eau filtrée) et le compartiment hyporhénique (analyse des sédiments superficiels).



Figure 22. Localisation des neuf tributaires majoritaires du Bassin d'Arcachon.

Plusieurs études de la contamination des tributaires réalisées antérieurement (Auby *et al.*, 2007; Crespo, 2009; Rapport Ascobar, 2009) nous ont permis de déterminer un plan géographique d'échantillonnage qui intègre neuf cours d'eau dont deux canaux (Figure 22, Tableau 3). La pertinence du choix des sites d'échantillonnage est appuyée tout d'abord par la représentativité des volumes d'eau douce apportés vers la lagune (plus de 90 % des apports superficiels directs échantillonnés, Tableau 3), et ensuite par leur répartition

géographique homogène autour du Bassin. Ce choix intègre également le suivi de cours d'eau de faible débit qui ont été identifiés précédemment comme les cours d'eau les plus contaminés, ou bien contaminés de manière atypique (Bourg et Pontails).

Tableau 3. Caractéristiques et localisation des neuf points de prélèvements

Site	pH ^a	Conductivité ^a ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	Apports superficiels en eau douce Source DREAL Aquitaine (%)	Coordonnées GPS	
				X	Y
Craste de Nézer	7.03	374	N.D.	373.47923	6401.86777
Canal des Landes	7.00	192	4.2	373.604128	6401.88913
Bourg	6.64	200	N.D.	377.058766	6401.31224
Leyre	7.02	182	77.2	383.151328	6399.97216
Pontails	6.71	223	0.8	381.874037	6406.85926
Lanton	6.62	174	1.3	381.517642	6407.59459
Bétey	6.76	228	N.D.	376.405513	6412.92972
Cirès	6.65	186	1.8	374.391506	6414.87944
Canal des Etangs	6.88	244	8	371.017026	6418.74013

^a : valeurs moyennes mesurées sur la période d'étude ; N.D. : non disponible

Par ailleurs, un travail particulier a été fourni pour améliorer la représentativité temporelle d'une part en utilisant des échantillonneurs passifs de type POCIS pour la quantification des pesticides neutres et hydrophiles selon une méthode développée préalablement au laboratoire (Lissalde *et al.*, 2011) ; et d'autre part en faisant un suivi bisannuel continu (du 22 mars 2010 au 12 décembre 2011) pour ne négliger aucun événement de contamination au cours de cette période.

Enfin, la qualité de l'information analytique a été affinée en augmentant le nombre de molécules analysées (66 contre 33 pour la précédente étude « Ascobar », *cf.* chapitre I), ce qui revient à agrandir la lucarne par laquelle nous revient l'image de la contamination réelle. Le plan d'échantillonnage est résumé dans le Tableau 4 et les données numériques sont détaillées par site en annexe 16 à 24.

Tableau 4. Stratégie d'échantillonnage

Groupe de molécules par méthode analytique	Matrice échantillonnée	Mode d'échantillonnage	Fréquence ou Renouvellement
Glyphosate & AMPA	Eau (fraction dissoute)	Ponctuel	Mensuel
19 herbicides acides	Eau (fraction dissoute)	Ponctuel	Mensuel
33 pesticides neutres LC	Eau (fraction dissoute)	POCIS	Mensuel
33 pesticides neutres LC	Sédiment	Ponctuel	Trimestriel
11 pesticides neutres GC	Sédiment	Ponctuel	Trimestriel

2.2. Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS

Les trente trois pesticides neutres ont été suivis par échantillonnage passif intégratif à l'aide d'un dispositif sélectif des molécules polaires (POCIS) développé par Alvarez *et al.* (2004) et calibré pour nos analytes lors de développements récents au sein du laboratoire d'Irstea. Entre le 22 mars 2010 et le 12 décembre 2011, 22 séries de POCIS ont été exposées successivement pendant quatre semaines sur chacun des neuf sites. Il est à noter que les POCIS ont été sujets à de nombreux vols et/ou pertes. En effet, sur l'ensemble des 22 mois de suivi, 8 % des échantillonneurs n'ont pas été retrouvés après exposition, ce qui peut affecter l'interprétation de l'ensemble de la chronique. Toutefois, en cas de perte, un prélèvement ponctuel a été effectué pour minimiser la perte d'information. Les protocoles sont disponibles en annexes 2, 6, 10, 11, 12 et 13.

Les résultats pour cette classe de pesticides sont illustrés dans la Figure 23, et montrent qu'environ 50 % des composés recherchés ont été quantifiés (LOQ des POCIS estimée à 5 ng.L⁻¹ dans notre cas) au moins une fois dans un des tributaires. Parmi les 17 molécules retrouvées, 10 ont une fréquence de quantification inférieure à 5 % (azoxystrobine, carbendazime, DEA, IPPU, irgarol, linuron, métazachlore, metoxuron, simazine, thiodicarb), 2 sont spécifiques à un ou deux cours d'eau (hexazinone, isoproturon), et 5 sont ubiquistes (acétochlore, alachlore, DCPMU, diuron, métolachlore). Les concentrations mesurées sont plutôt faibles, avec des concentrations cumulées qui n'excèdent généralement pas 0,2 µg.L⁻¹ sauf pour le ruisseau du Bourg, la Leyre et le Pontails où la contamination totale peut atteindre 1,5 µg.L⁻¹ (Bourg, avril 2010). Plusieurs profils annuels de contamination peuvent être dégagés en fonction des cours d'eau : des contaminations plutôt estivales (Pontails), hivernales (Leyre, Lanton, canal des Etangs) ou bien relativement constantes au cours de l'année (craste de Nézer, canal des Landes, Bourg, Bétey, Cirès). Cependant, nous pouvons souligner que les périodes de contamination ne coïncident pas nécessairement avec les périodes d'application des produits phytosanitaires, notamment pour les épisodes de pollution hivernaux.

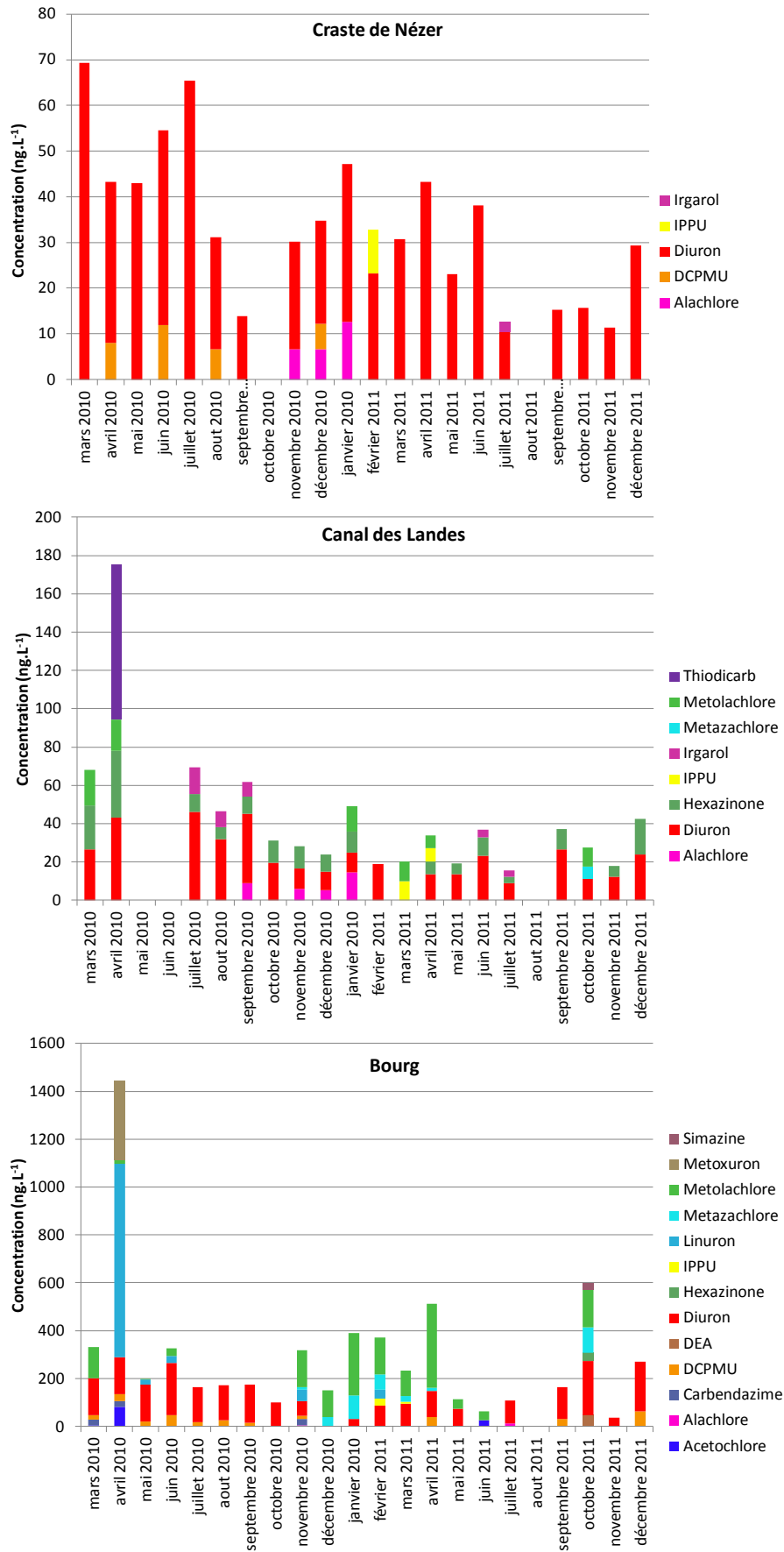
Parmi les 10 molécules minoritaires, peu peuvent être associées à un usage spécifique hormis l'irgarol. En effet, étant donné l'impact de la marée saline sur la craste de Nézer et le canal des Landes ainsi que la proximité du Port de la Hume, la présence estivale d'irgarol sur

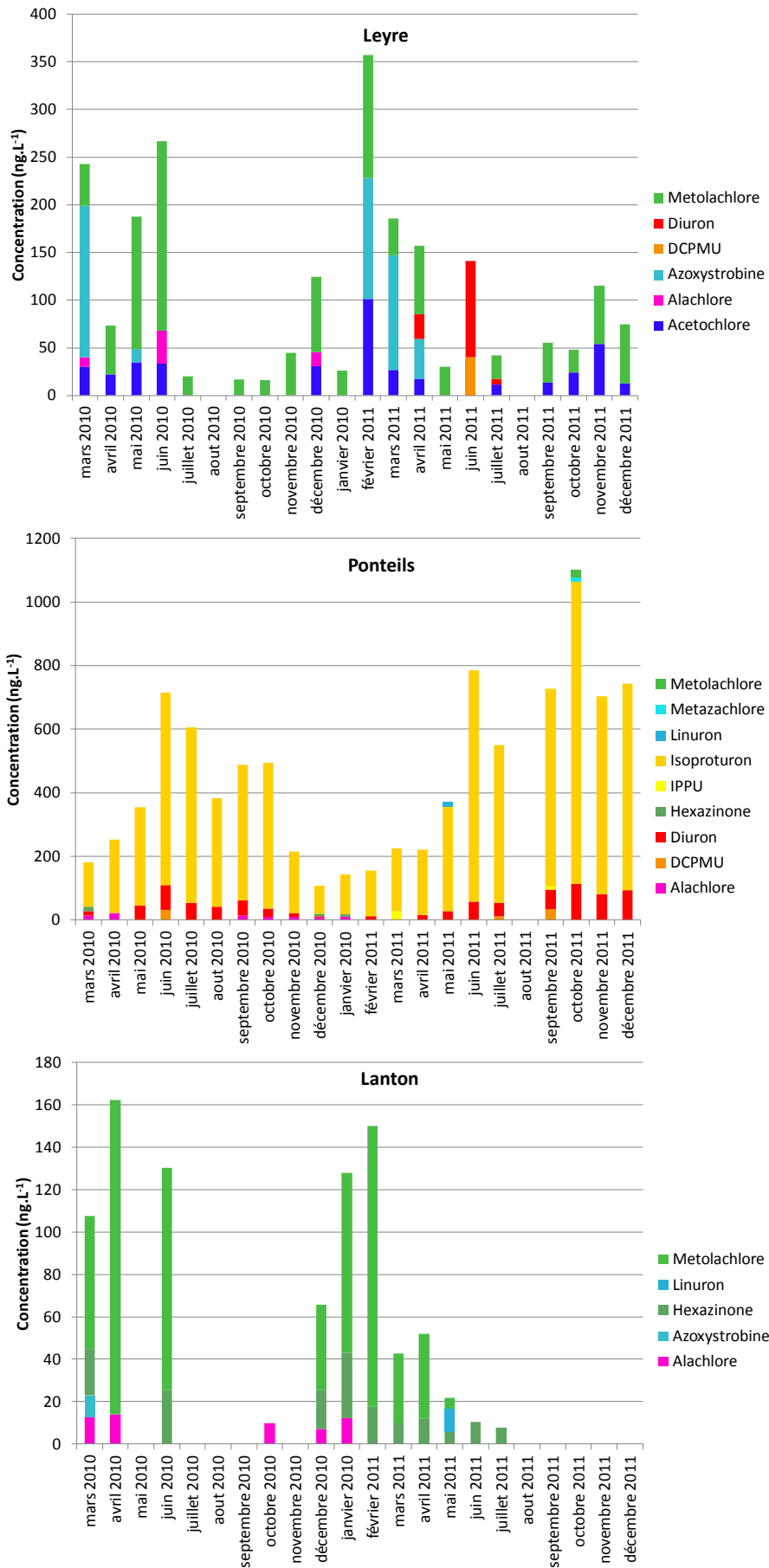
ces sites est révélatrice d'activités nautiques dans le Bassin d'Arcachon (rétro-contamination depuis le Bassin vers les points d'échantillonnage à marée haute).

Du fait de leur large spectre d'utilisation (blé, orge, seigle, luzerne, usages forestiers et industriels), l'isoproturon et l'hexazinone, spécifiquement quantifiés dans le ruisseau du Pontails, dans le canal des Landes et le Lanton respectivement, sont difficilement assimilables *a priori* à des usages bien définis. Il serait par conséquent nécessaire d'affiner l'étude des usages, de manière à caractériser les sources (possiblement atypiques) de ces molécules parfois quantifiées à des niveaux non négligeables (isoproturon dans le Pontails par exemple).

A l'inverse, les molécules les plus souvent quantifiées sont clairement associées à des usages connus. Le diuron étant interdit pour les usages agricoles et non agricoles depuis 2008, nous pouvons raisonnablement attribuer le bruit de fond mesuré (craste de Nézer, Bourg, Bétey) à des rémanences d'usages non agricoles (entretien des espaces publics et de la voirie, Bourg) ou à des usages nautiques (peintures antisalissures, craste de Nézer). On pourra également remarquer que la contamination en diuron est généralement accompagnée d'une contamination en DCPMU, son métabolite majoritaire. Dans le cas du Bétey, les concentrations en DCPMU sont presque équivalentes à celles relevées pour le diuron, ce qui peut être expliqué par une contamination plus ancienne ou bien des processus de dégradation plus rapides (activité microbienne plus intense dans les sols par exemple).

Par ailleurs, les trois chloroacétanilides les plus quantifiés (métolachlore, acétochlore, alachlore) sont caractéristiques des cultures locales, dont le maïs principalement mais aussi la carotte.





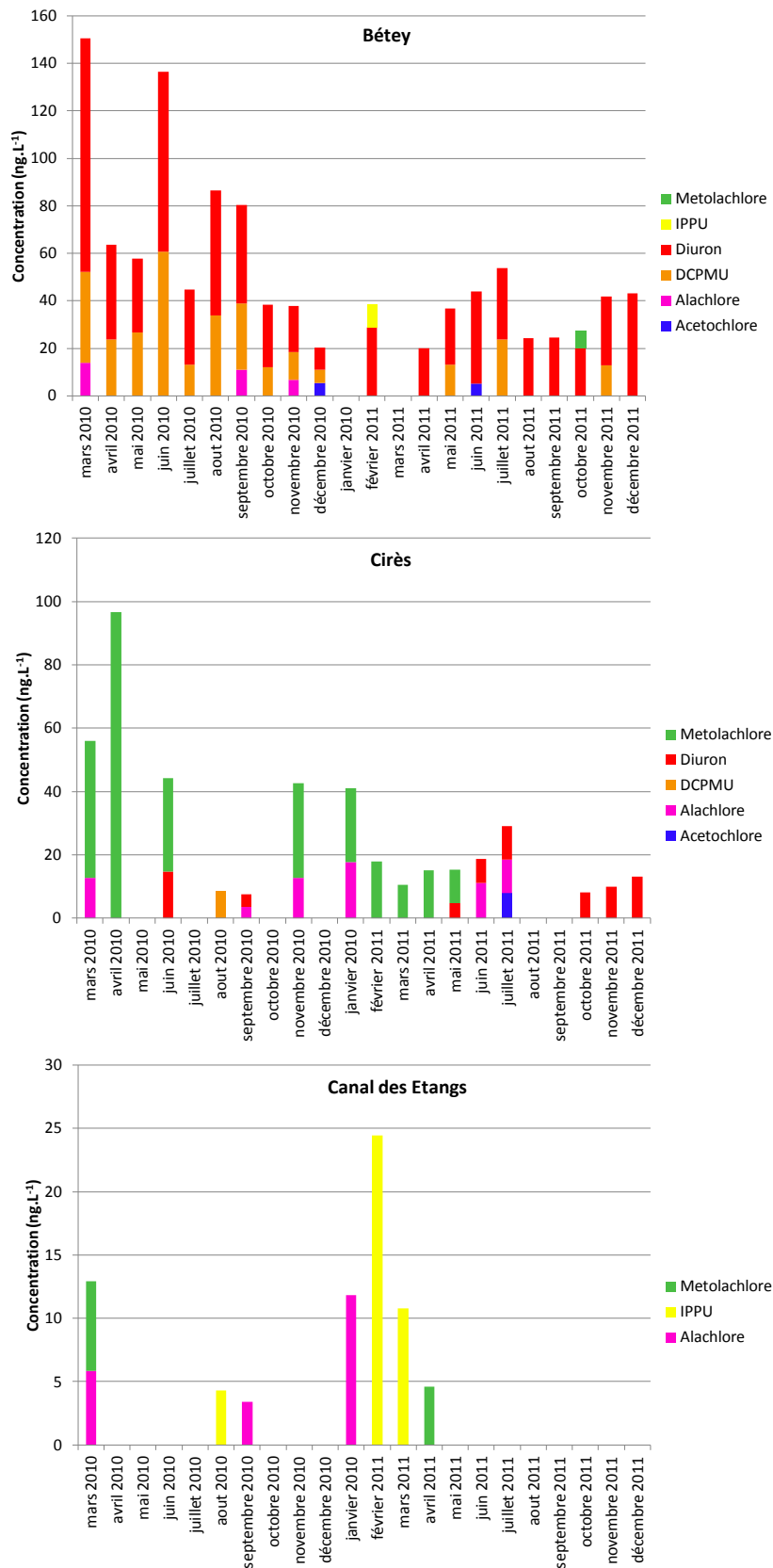


Figure 23. Suivi de la contamination en 33 pesticides neutres dans les neufs principaux tributaires du Bassin d'Arcachon. Les astérisques marquent les dates auxquelles les POCIS ont été perdus ou inexploitable et remplacés par un prélèvement ponctuel.

2.3. Résultats d'analyse des herbicides et métabolites acides par prélèvements ponctuels

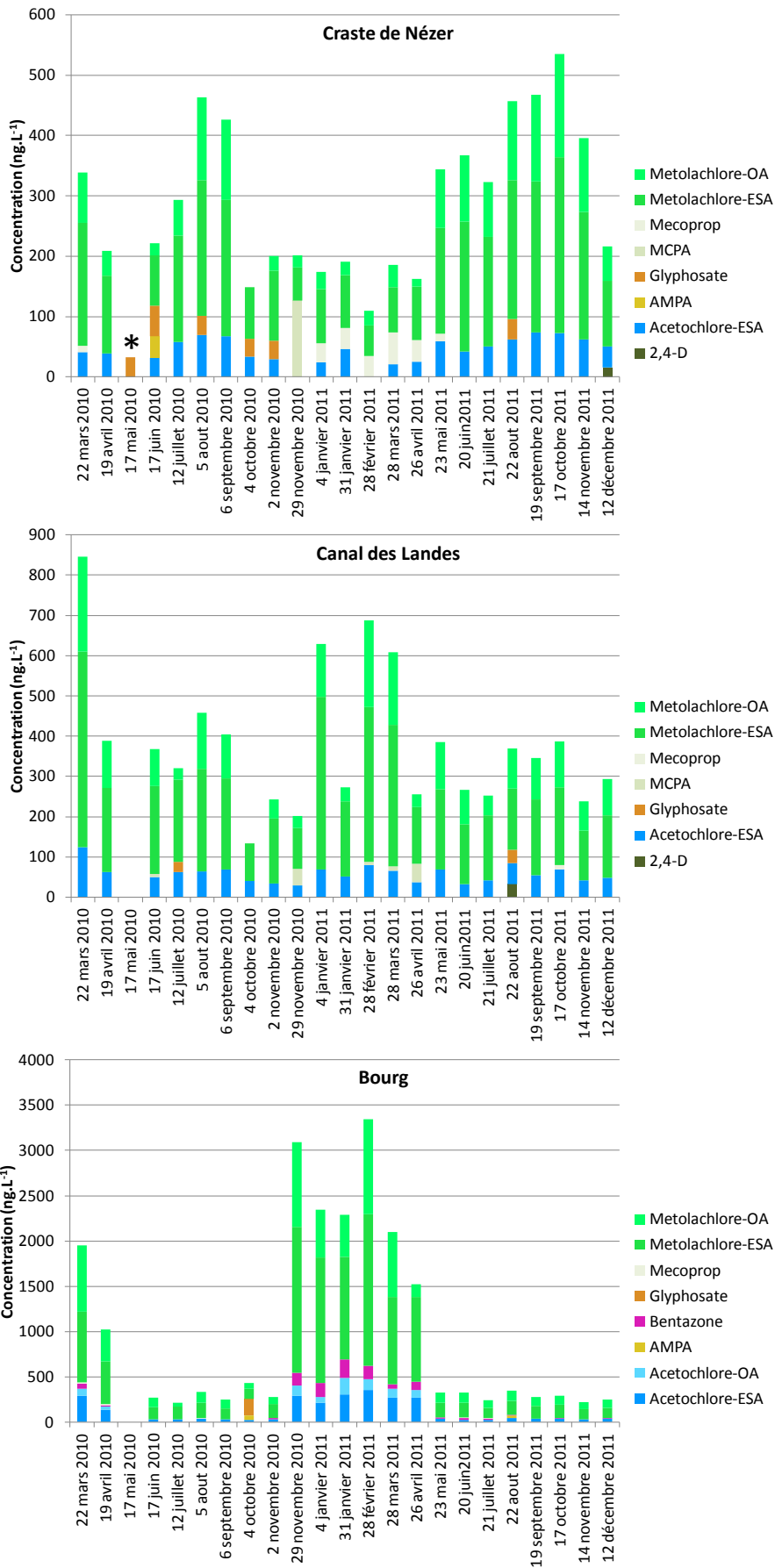
Du fait de leur polarité élevée ($\log K_{ow} < 0$), les herbicides et métabolites acides ne peuvent être échantillonnés correctement par les POCIS (taux d'échantillonnage faibles, équilibres échantillonneur-eau atteints rapidement). Les analyses ont donc été effectuées sur des prélèvements ponctuels mensuels lors de ce suivi ; de plus le glyphosate, ainsi que son métabolite AMPA, ont été analysés séparément du fait de leurs caractéristiques chimiques spécifiques (Tran-Thi *et al.*, 2009). Les protocoles sont détaillés en annexes 3, 4, 7 et 8.

Parmi les 21 molécules acides analysées, 12 ont été mesurées au moins une fois. Les résultats (Figure 24) illustrent une contamination quasi générale en métabolites ESA et OA de l'acétochlore et du métolachlore, en bentazone, et, à l'instar de l'isoproturon pour les pesticides neutres, une contamination forte et singulière du ruisseau du Pontails (dichlorprop et mecoprop probablement attribuable à des usages de type entretien des espaces urbains, ou bien à des déchets enfouis dans le centre d'enfouissement technique situé à l'amont proche).

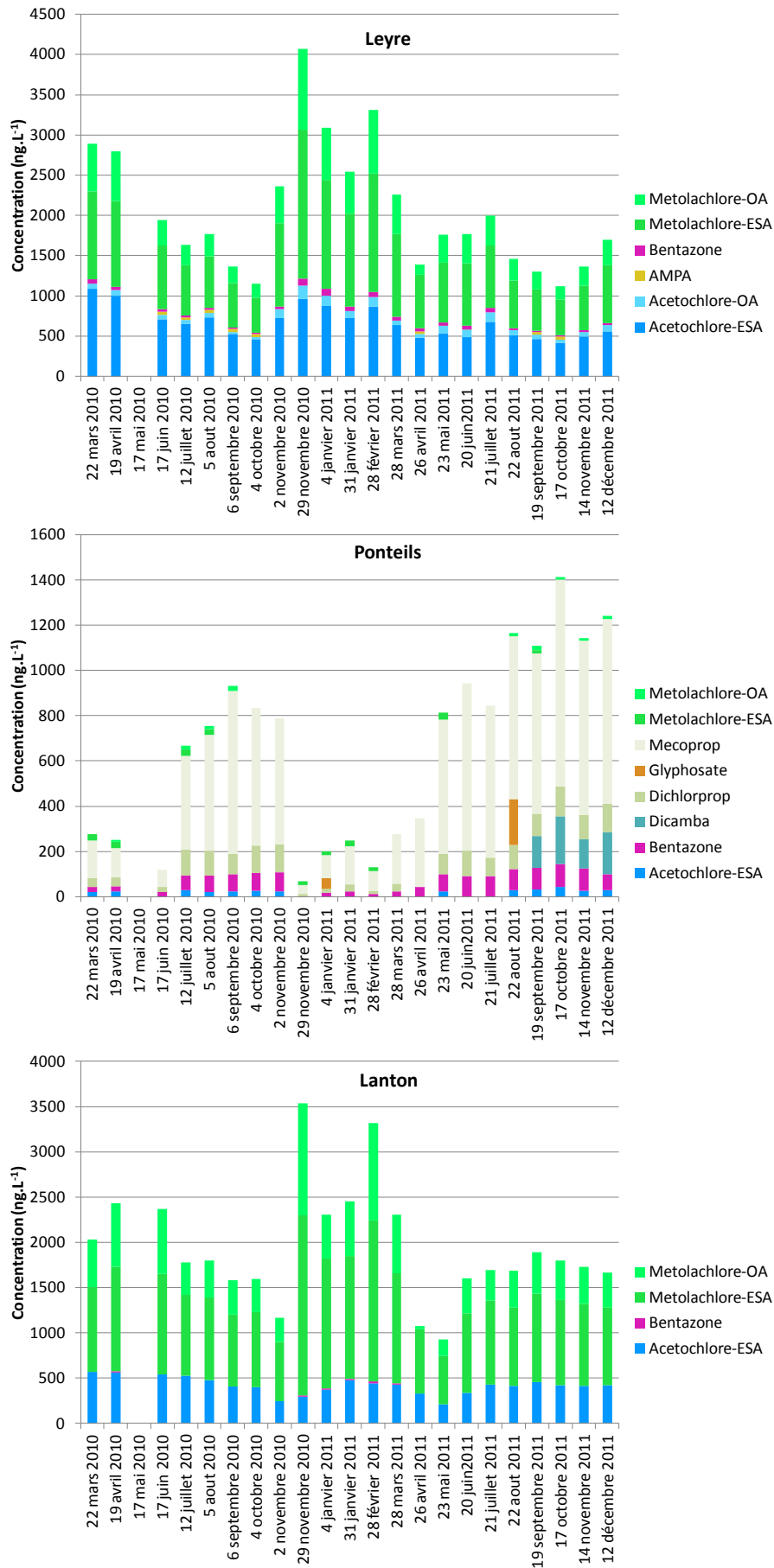
Les quantifications du glyphosate et de l'AMPA s'avèrent être relativement basses en valeur et occasionnelles en fréquence, malgré les fortes doses appliquées annuellement sur le bassin versant (*cf.* chapitre I, Tableau 1). Leur dégradation relativement rapide ainsi que leur faible mobilité dans le sol ($1000 < K_{oc} \text{ (glyphosate)} < 50000$, en fonction de la nature du sol, source ANSES) pourraient expliquer ce phénomène. En effet, Kjær *et al.* (2005) ont démontré une forte capacité d'adsorption du glyphosate dans les sols, et notamment les sols sableux. Toutefois, le profil de contamination de la Leyre se distingue par une présence estivale systématique de l'AMPA.

Comparativement aux pesticides neutres, les profils saisonniers de contamination sont plus marqués, avec une majorité de cours d'eau qui montrent un pic de concentration en hiver (canal des Landes, Bourg, Leyre, Lanton, Bétey, Cirès, canal des Etangs), et seulement deux cours d'eau (craste de Nézer, Pontails) dans lesquels on observe un maximum en été. Ces tendances générales ne reflètent pas les transferts rapides (ruissellement) souvent associés aux périodes d'application pour les usages considérés (essentiellement durant le

printemps pour la maïsiculture, lors du pré-semis ou de la pré-levée des adventices) et nous amènent à envisager un mécanisme de transfert des contaminants plus long et plus complexe depuis le sol vers les cours d'eau (élément discuté plus en profondeur dans la section 2.5).



Chapitre III. Suivi de la contamination en pesticides dans les tributaires du Bassin d'Arcachon



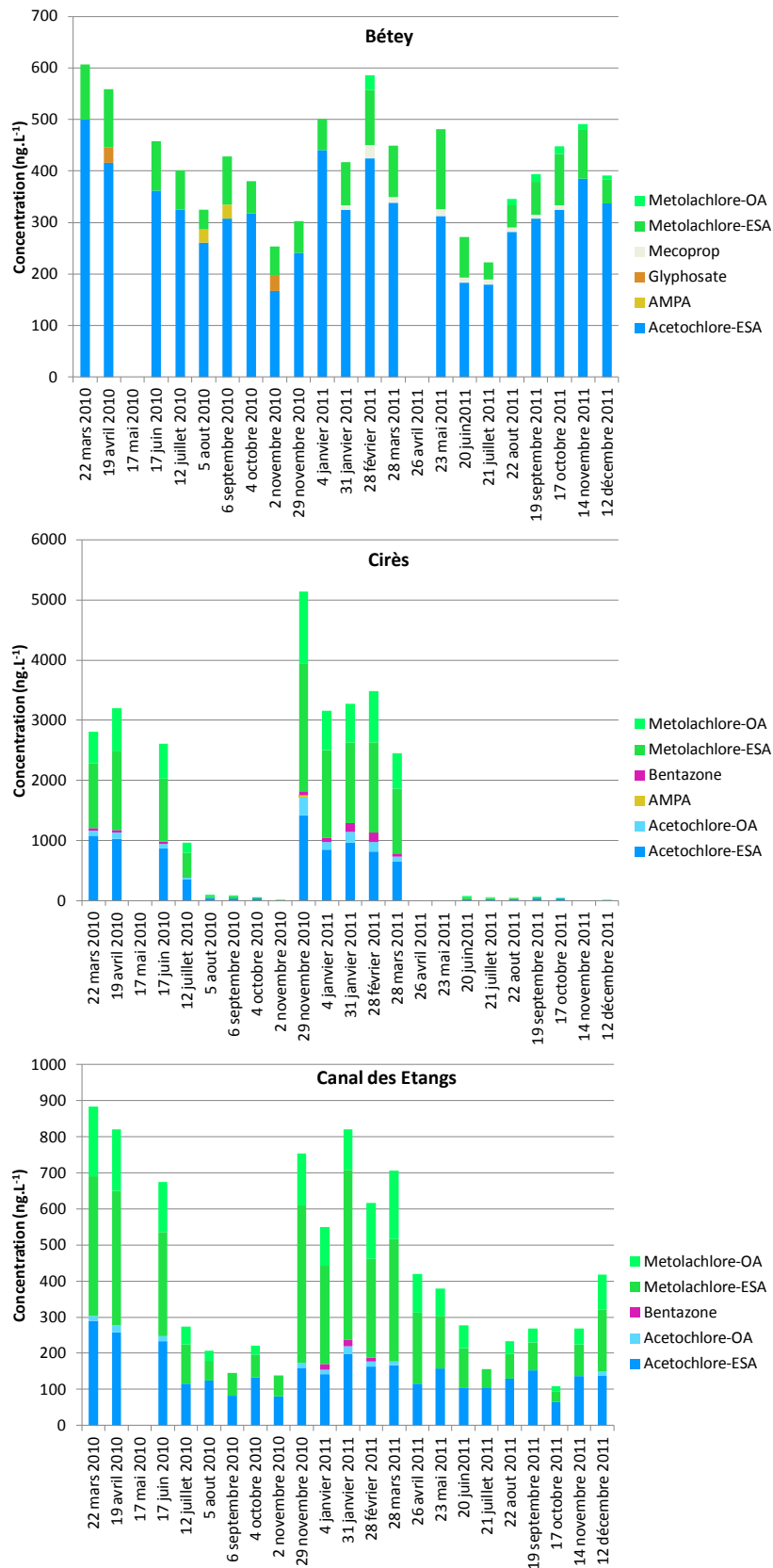


Figure 24. Suivi de la contamination en 21 herbicides acides dans les neuf principaux tributaires du Bassin d'Arcachon. Les astérisques marquent les dates auxquelles les données sont inexploitables, hormis pour le glyphosate et l'AMPA.

Comme pour les composés neutres, les molécules acides ubiquistes et majoritaires sont facilement associées à des usages spécifiques, en l'occurrence la maïsiculture (métolachlore, acétochlore, bentazone). Par ailleurs, les molécules moins fréquemment quantifiées ou spécifiques de certains sites (2,4-D, MCPA, dicamba, glyphosate, dichlorprop, mecoprop) ont une origine plus incertaine, probablement liée à des usages urbains (entretien des espaces publics, de la voirie, usage des particuliers, etc.).

Ces résultats révèlent l'importance des molécules acides dans le suivi global de la classe « pesticide », et soulignent la prépondérance des métabolites ESA et OA, non-ciblés lors des précédentes études (Auby *et al.*, 2007; Rapport Ascobar, 2009) et systématiquement plus concentrés que les molécules mères (i.e. acétochlore et métolachlore). Cependant ces données pourraient souffrir d'un manque de représentativité temporelle du à la nature intrinsèque du mode d'échantillonnage ponctuel. En effet, celui-ci ne permet pas d'intégrer les fluctuations rapides de concentration de ces molécules très polaires et fortement mobiles. Ainsi, bien que la sulcotrione soit inscrite dans la liste des 15 molécules les plus utilisées sur le bassin versant (*cf.* chapitre I, Tableau 1), aucune trace n'a pu être détectée dans les eaux pendant la période d'étude. Ce phénomène pourrait s'expliquer soit par une dégradation rapide de la substance dans le sol (DT 50 quatre fois inférieure à celle du métolachlore par exemple), soit par une forte variabilité de la contamination.

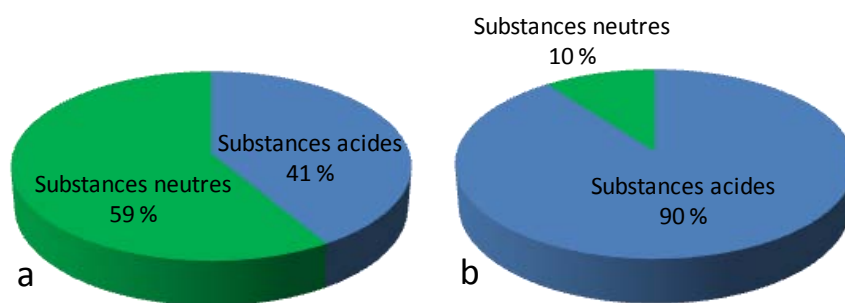


Figure 25. Proportion de substances acides et neutres en nombre de composés dosés (a) et en quantité mesurée (b).

Si l'on considère les résultats de ce suivi environnemental, bien que nous ayons eu recours à deux techniques d'échantillonnage différentes selon les deux classes de pesticides étudiés, il ressort que la quantité mesurée en composés acides est de loin supérieure à celle des molécules neutres, avec une proportion de l'ordre de 90 % de la concentration totale

cumulée (Figure 25). Le développement d'un échantillonneur passif pour les composés organiques acides apparaît donc indispensable pour un suivi environnemental plus juste et plus complet, à défaut d'être exhaustif.

2.4. Résultats d'analyse du compartiment sédimentaire

Parallèlement au suivi de la fraction dissoute, le compartiment sédimentaire des neuf tributaires a été examiné par des prélèvements ponctuels à une fréquence trimestrielle. Les pesticides neutres hydrophiles et hydrophobes ont été analysés séparément par chromatographie en phase liquide et gazeuse respectivement (Desgranges, 2010; Mazzella et Desgranges, 2011), et les résultats sont présentés dans la Figure 26. Les protocoles d'extraction et d'analyse sont disponibles en annexes 5, 6 et 9.

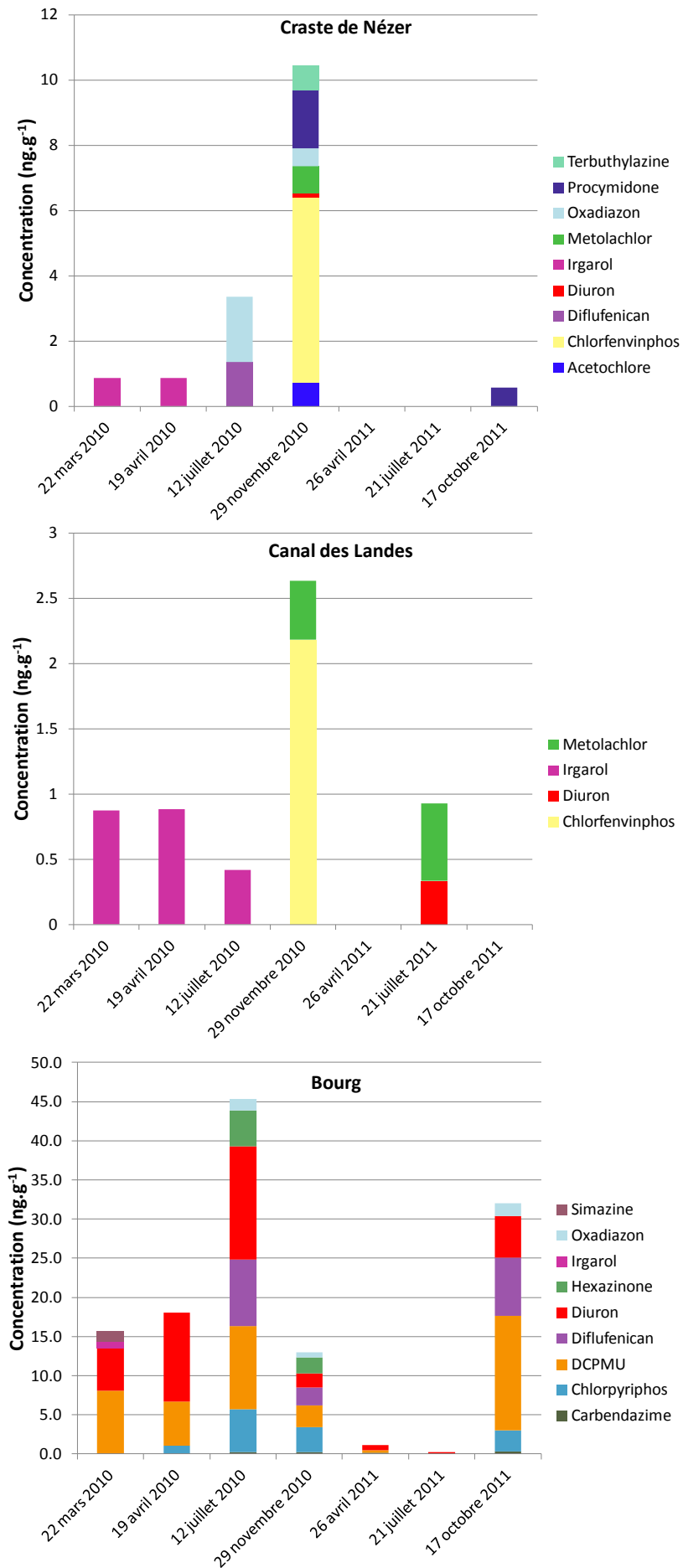
La contamination des sédiments des affluents du Bassin d'Arcachon demeure assez faible en nombre de molécules quantifiées (16 molécules sur 43 analysées) et en niveau de contamination. En effet, à l'exception du ruisseau du Bourg, la concentration cumulée est de l'ordre de quelques nanogrammes par gramme de sédiment sec. La faiblesse des valeurs mesurées est attribuable aux interactions défavorables entre les analytes (modérément polaires) et le sédiment sableux à faible teneur en matière organique (matière organique : 16,5 mg.g⁻¹, fraction minérale : 96,4 % sable, 3,6 % argiles et limons). Il n'existe pas de tendances saisonnières franches, sauf sur le Bourg où la contamination est maximale sur les prélèvements estivaux.

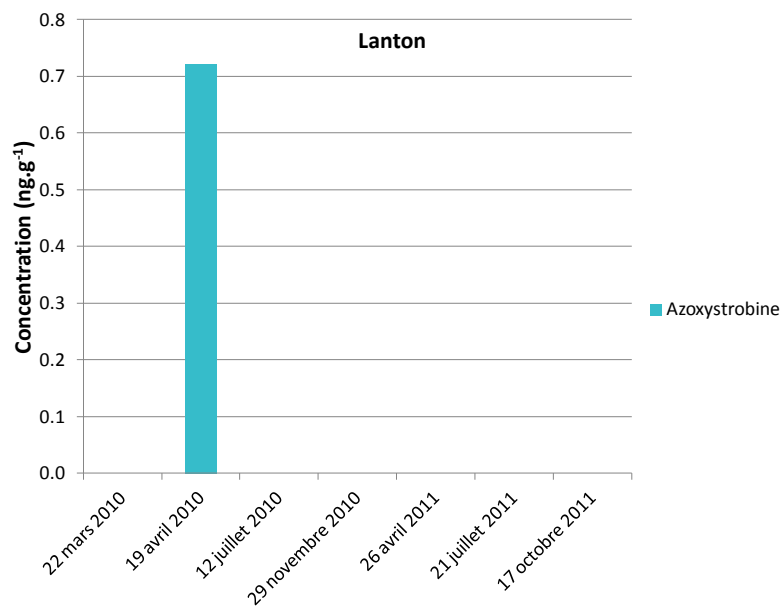
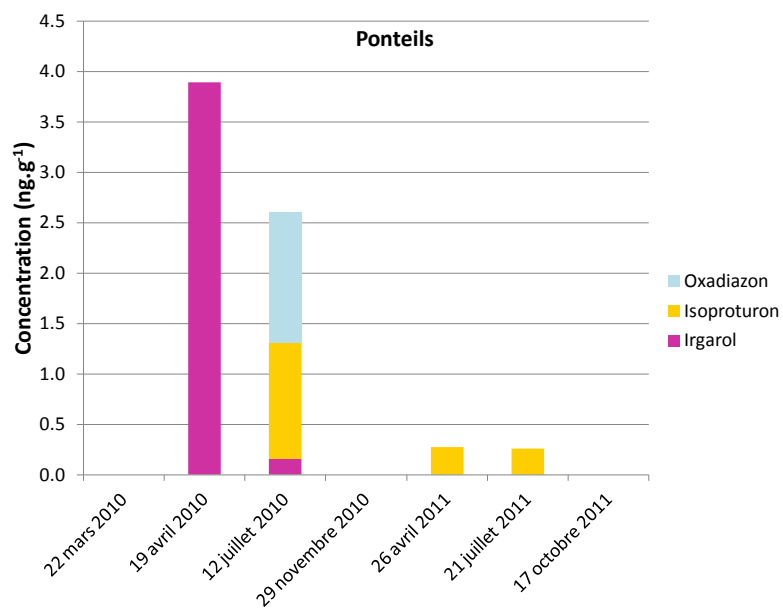
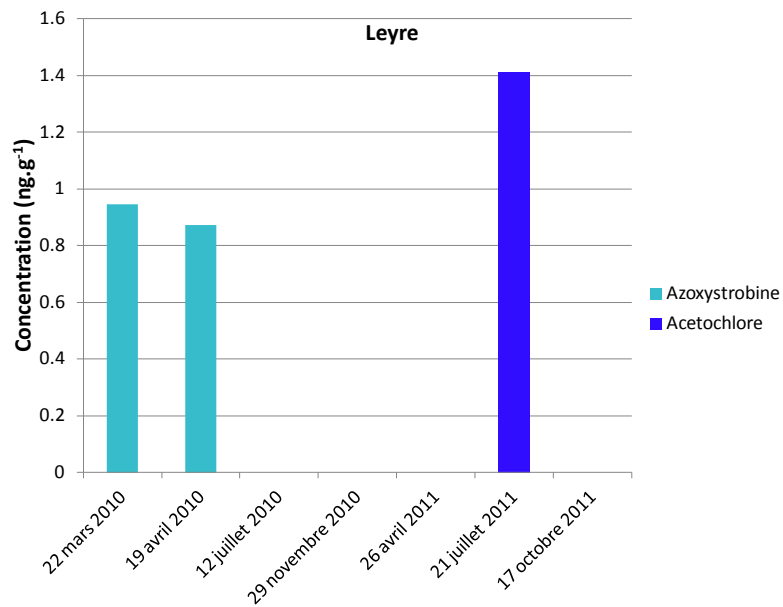
La corrélation entre les pollutions sédimentaire et aquatique se vérifie dans la majorité des cas. En effet on retrouve dans les sédiments les marqueurs de la contamination aquatique : acétochlore et azoxystrobine dans la Leyre ; carbendazime, DCPMU et diuron dans le ruisseau du Bourg ; isoproturon dans le Ponteils... Cette corrélation n'est cependant pas observée pour toutes les molécules puisque des contaminations inattendues ont été relevées (chlorfenvinphos dans la craste de Nézer et le canal des Landes, irgarol dans le Ponteils, chlorpyriphos dans Bourg).

Si l'on considère le POCIS comme un compartiment introduit dans l'environnement, on pourrait l'assimiler à du matériel sédimentaire intégratif et spécifique des composés hydrophiles. Ainsi, il n'est pas étonnant de ne retrouver qu'une correspondance partielle entre la contamination du compartiment sédimentaire (spécifique des composés plutôt

hydrophobes) et celle mesurée grâce au POCIS (fraction dissoute). Les molécules plutôt hydrophobes (diflufénican, oxadiazon, procymidone), dosées uniquement par GC-MS², n'ont par conséquent pas été analysées quantitativement dans la fraction dissoute du fait de leur grande affinité pour le matériel particulaire ($\log K_{ow} > 4$). Néanmoins, les extraits de POCIS correspondant aux dates de prélèvement des sédiments ont été analysés par GC-MS² de manière à vérifier qualitativement la présence éventuelle des composés hydrophobes quantifiés dans les sédiments (diflufénican, oxadiazon, procymidone). Parmi ces molécules, seul le diflufénican a été détecté dans les extraits de POCIS du Bourg le 12 juillet 2010 et le 17 octobre 2011. Ces détections concordent avec des contaminations du compartiment sédimentaire à des niveaux relativement élevés (8,5 et 7,4 ng.g⁻¹) comparativement aux contaminations mesurées de manière générale dans les sédiments (maximum de 14,6 ng.g⁻¹ de diuron dans le Bourg le 17 octobre 2011). Ces résultats montrent donc la complémentarité des analyses de sédiments et d'échantillonneurs passifs sur un même site pour avoir une image plus complète de la contamination, à la fois dans les compartiments dissous et particulaire. En confrontant les cocktails de contaminants retrouvés dans les tributaires du Bassin d'Arcachon avec les statistiques nationales de suivi des sédiments (SOeS, 2011), il ressort que trois molécules (métazachlore, métolachlore et diuron) sont très représentées dans les sédiments français et dans les sédiments de notre zone étude.

Par ailleurs, on remarque que les teneurs en métolachlore mesurées dans les sédiments des affluents du Bassin d'Arcachon sont très faibles. Malgré une polarité et des concentrations similaires, le métolachlore ne semble pas se comporter de la même manière que le diuron, à la fois représenté dans la fraction dissoute et dans le compartiment sédimentaire. Une première explication pourrait venir de la plus forte capacité de dégradation du métolachlore dans le sol (DT 50 = 15 j, contre 75 j pour le diuron), qui justifierait les faibles teneurs mesurées. Les fortes concentrations en métabolites mesurées dans la fraction dissoute appuient par ailleurs cette interprétation.





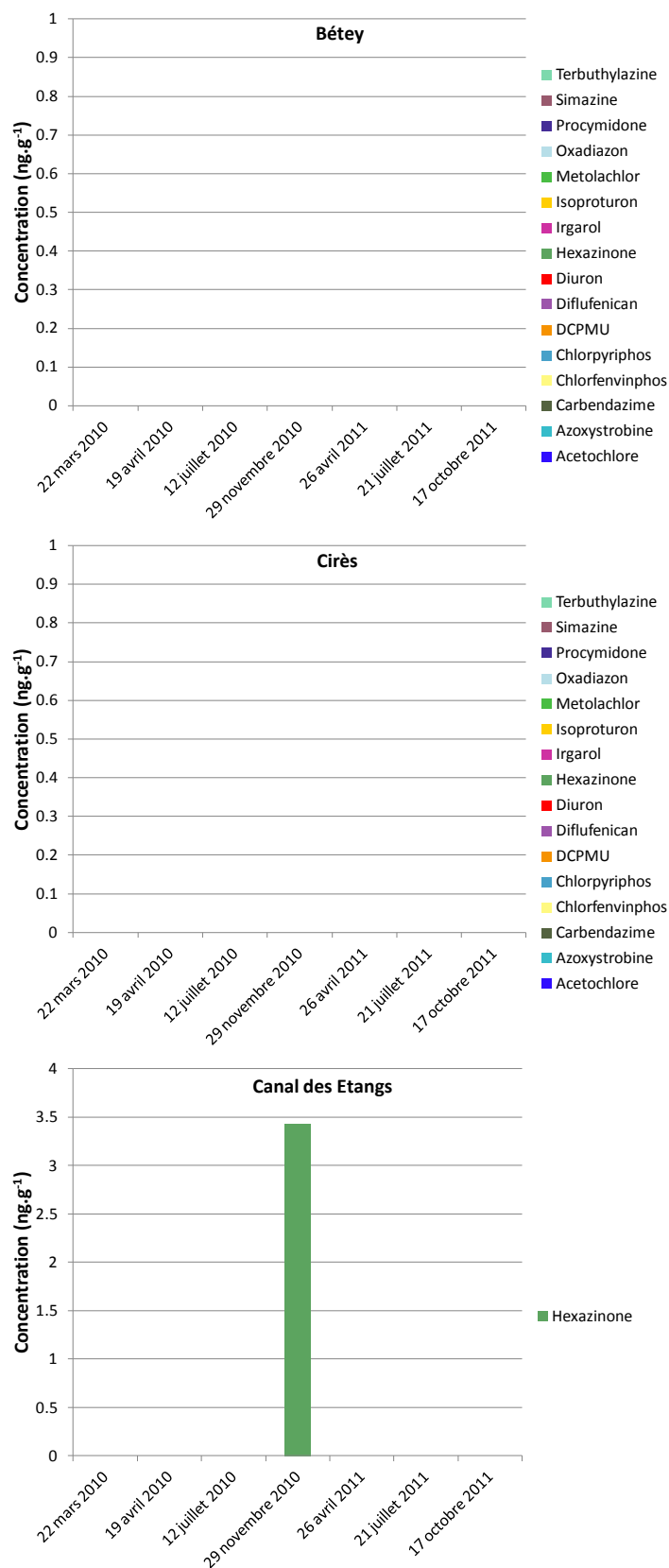


Figure 26. Suivi de la contamination des sédiments des neuf principaux tributaires du Bassin d'Arcachon par les pesticides. L'astérisque marque une absence d'échantillonnage (événement de crue).

2.5. Discussion relative aux apports continentaux en pesticides et hypothèse de transferts

Les résultats présentés dans les sections précédentes ont montré une contamination des tributaires relativement faible en pesticides neutres, une contamination plus importante et ubiquiste en métabolites des chloroacétanilides, et enfin une accumulation très faible des pesticides dans le compartiment sédimentaire. Nous avons également montré que les ruisseaux du Bourg et du Pontails subissent une contamination élevée et atypique, et que les profils temporels de contamination ne correspondent pas aux périodes d’application de produits phytosanitaires, lors d’usages agricoles.

Les niveaux de concentration relevés, hors métabolites des chloroacétanilides, sont similaires à ce que l’on peut lire dans certaines études (Munaron, 2004; Caquet *et al.*, 2012; Miège *et al.*, 2012), et parfois très inférieurs à des contaminations mesurées dans d’autres suivis (Comoretto et Chiron, 2005; Comoretto *et al.*, 2007). Si l’on se réfère aux données du SOeS (2011), la majorité des tributaires (hors Pontails et Bourg) affichent une contamination qui se situe dans la moyenne basse des cours d’eau français (concentration cumulée inférieure à $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), à l’exclusion des métabolites ESA et OA qui ne sont pas considérés lors des suivis de routine. Par conséquent, au vu de la faiblesse des débits des différents affluents, on peut s’attendre à retrouver de faibles concentrations en pesticides d’origine continentale à l’intérieur de la lagune.

Par ailleurs, le cocktail de contaminants typique des affluents du Bassin d’Arcachon ne correspond que partiellement aux composés les plus retrouvés dans les eaux de surface françaises (*cf.* chapitre I, Figure 1). En effet, seuls le diuron, l’isoproturon et le métolachlore peuvent être considérés comme des contaminants majeurs et communs aux tributaires du Bassin d’Arcachon et à l’ensemble des cours d’eau français. Ces différences peuvent être expliquées par l’occupation du sol spécifique du bassin versant du Bassin d’Arcachon (culture du maïs majoritaire, faible urbanisation, etc.), ainsi que par la nature particulière de son sol sableux (transfert des contaminants, mécanismes de dégradation et adsorption des contaminants probablement spécifiques).

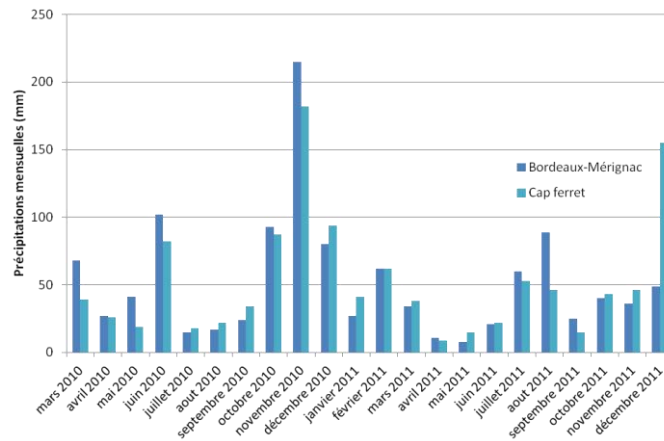


Figure 27. Précipitations au Cap Ferret et à Bordeaux pendant la période d'étude (source Météo France).

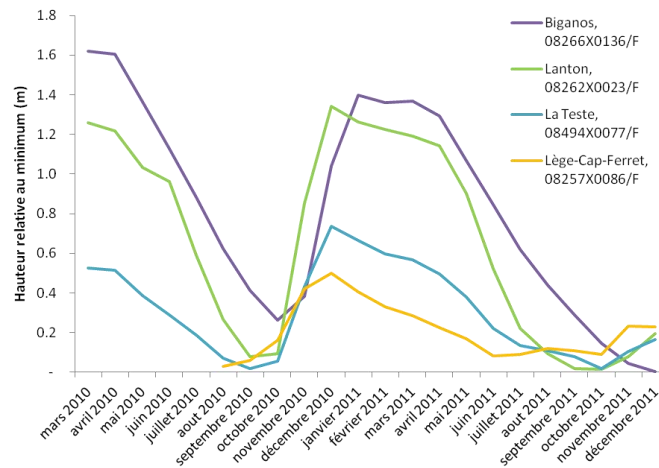


Figure 28. Variation du niveau des nappes phréatiques autour du Bassin d'Arcachon entre le 22 mars 2010 et le 12 décembre 2011 (source ADES, codes BSS associés aux sites).

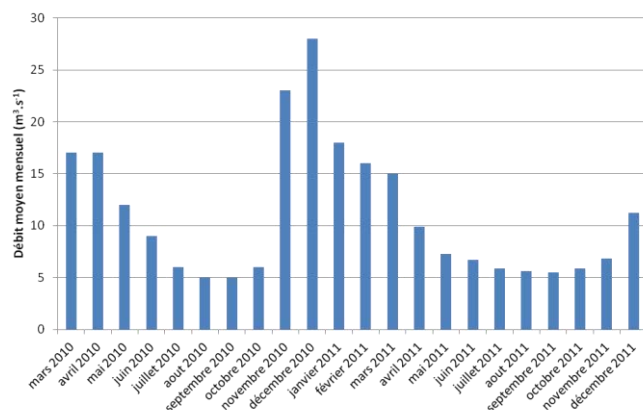


Figure 29. Débit moyen mensuel de la Leyre pendant la période d'étude (source DREAL Aquitaine).

Les profils saisonniers atypiques de contamination doivent être mis en relation avec la géologie, la pédologie, et l'hydrologie spécifiques de l'environnement du Bassin d'Arcachon et plus généralement du milieu des Landes de Gascogne. Comme spécifié dans le premier chapitre, les tributaires du Bassin s'apparentent plus à des « surverses » de la nappe phréatique sub-affleurante qu'à des exutoires des eaux de ruissellement du fait de la forte perméabilité du sol sableux qui minimise les phénomènes de ruissellement. En conséquence, nous avons relevé les tendances des paramètres hydrologiques majeurs comme les précipitations, le débit des cours d'eau et le niveau des nappes pendant la période d'étude grâce à la mise à disposition des données par Météo France, la DREAL et ADES. Les précipitations (Figure 27), similaires entre le Cap Ferret et Bordeaux-Mérignac, peuvent être considérées comme équivalentes sur l'ensemble du Bassin d'Arcachon. Il en va de même des variations de niveaux de nappe phréatique mesurés autour du Bassin (Lège-Cap-Ferret, Lanton, Biganos, la Teste, Figure 28) ; et les données de débits ne sont quant à elles accessibles que pour la Leyre (Figure 29).

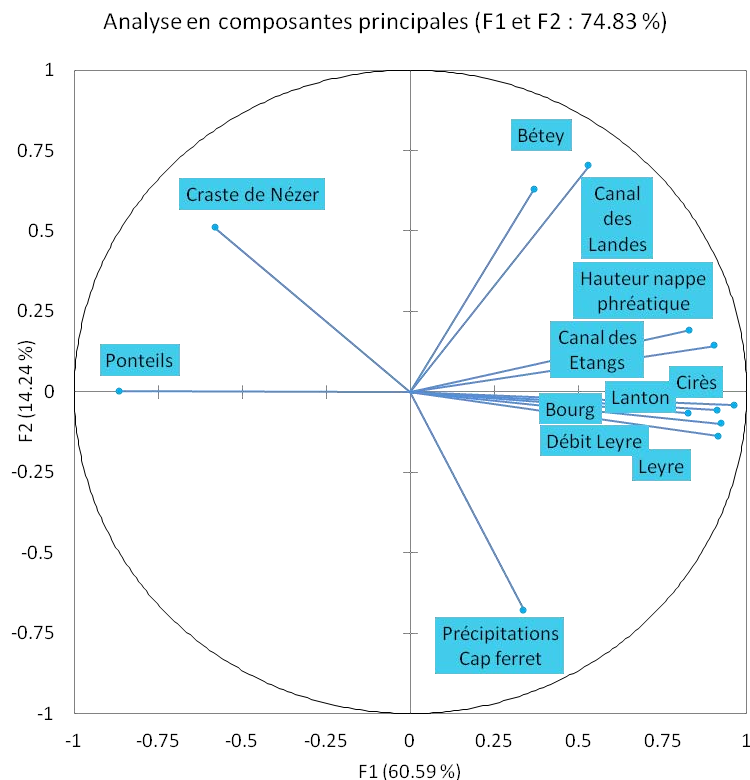


Figure 30. Analyse en composantes principales de la contamination cumulée de chaque cours d'eau et des paramètres hydrologiques majeurs (hauteur de la nappe phréatique à Lanton, précipitations à Lège-Cap-Ferret, débit de la Leyre) entre mars 2010 et décembre 2011 (logiciel XLSTAT).

En faisant l'hypothèse de l'homogénéité des descripteurs hydrologiques cités précédemment sur l'ensemble de la zone d'étude, nous pouvons les confronter *via* une analyse en composantes principales (ACP) à la contamination totale de chaque cours d'eau au cours du temps. Les deux premiers axes de l'ACP (Figure 30) représentent environ 75 % de l'information. Deux groupes se distinguent clairement sur l'axe F1 (61 % de l'information), avec d'un côté Ponteils et la craste de Nézer, et de l'autre côté les autres tributaires ainsi que les paramètres hydrologiques. L'axe F2 (14 % de l'information) oppose de manière moins marquée le paramètre « précipitations » et les sites craste de Nézer, Bétey et canal des Landes.

Tout d'abord, la forte corrélation positive entre le débit de la Leyre et la hauteur de nappe phréatique illustre le lien étroit qui existe entre ces deux compartiments, ce qui renforce par conséquent l'hypothèse de cours d'eau se comportant comme des « surverses » de la nappe. Par ailleurs, la corrélation forte, positive ou négative, de la contamination des cours d'eau avec la hauteur de nappe et le débit de la Leyre indique dans le premier cas un apport plausible des contaminants par la nappe, ce qui expliquerait par ailleurs la forte représentation des métabolites dans les cours d'eau montrant un maximum hivernal de contamination (dégradation des molécules dans le sol suivie d'un stockage probable dans la nappe, temps de résidence élevés avant évacuation) ; et dans le second cas un probable rejet direct plus ou moins dilué par le débit du cours d'eau au cours de l'année.

Par ailleurs, afin de vérifier l'hypothèse de rejet direct dans le cours d'eau en cas de contamination estivale, nous avons mis en place une stratégie de « mapping » à petite échelle sur le Ponteils (Figure 31). Le mapping consiste à identifier une source possible de pollution directe adoptant un plan d'échantillonnage adéquat d'un point de vue spatial. Dans le cas du Ponteils, une source potentielle de pollution a été facilement ciblée puisqu'un centre d'enfouissement technique (CET) jouxté par un bassin de retraitement des eaux pluviales (en connexion directe avec le cours d'eau) se situe à quelques centaines de mètres en amont du point de prélèvement habituel pour notre suivi. Des analyses des pesticides neutres et acides pour un second site de prélèvement (localisé à l'amont du CET) ont été faites en septembre 2010 et n'ont montré aucune contamination par nos composés d'intérêt, ce qui soutient par conséquent l'hypothèse d'une source de pollution ponctuelle et directe dans le Ponteils au niveau du centre d'enfouissement. Une analyse

complémentaire de l'eau des piézomètres implantés sur le site a permis de mettre en évidence une contamination environ dix fois plus élevée dans la nappe phréatique que dans le Pontails (par exemple, le 31 janvier 2011, le mecoprop a été quantifié à $1,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans la nappe contre $0,17 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans le Pontails).

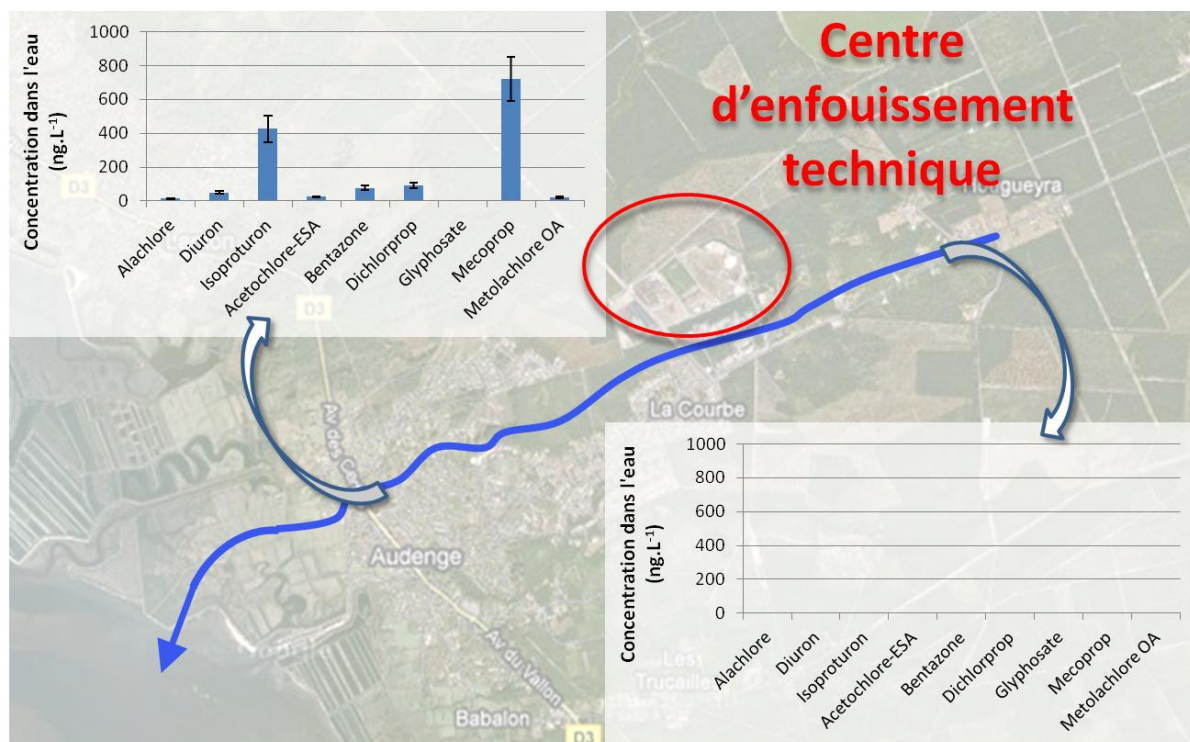


Figure 31. Mapping de la contamination sur le ruisseau du Pontails.

Un autre type d'analyse de données (analyses linéaires discriminantes contraintes par sites) nous a permis de discriminer les différents profils de contamination observables. Une première analyse (Figure 32a) qui prend en compte l'intégralité des données de contamination de la fraction dissoute pendant les deux années de suivi nous permet de distinguer Bourg, et surtout Pontails et Lanton des autres tributaires. L'analyse de la répartition des variables « molécules » (Figure 32b) propose des éléments explicatifs pour caractériser les profils de contamination de ces trois sites : Bourg est soumis à de fortes contaminations en diuron (usage urbain), Pontails est influencé par l'isoproturon, le mecoprop et le dichlorprop dans une moindre mesure (usage non déterminé, traitements généraux, blé, ou orge), et le Lanton semble être discriminé par ses concentrations élevées en métabolites ESA et en hexazinone; mais aussi et surtout par la quasi-absence

d'acétochlore-OA, de bentazone et de diuron, ce qui laisse présager des usages ou bien des mécanismes de transfert et de dégradation différents des autres cours d'eau.

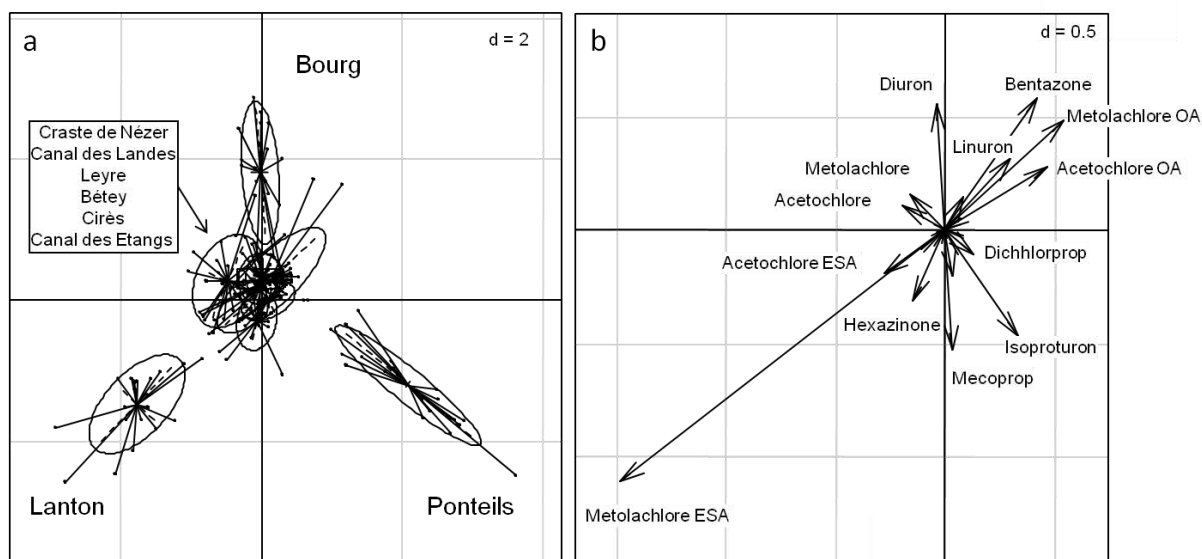


Figure 32. Analyse linéaire discriminante des profils de contamination des neuf tributaires du Bassin d'Arcachon. Projection des couples date-site groupés par site (a) et projection des molécules les plus discriminantes (b). Eigen values : 0,803 ; 0.605 (logiciel R).

Les six tributaires indifférenciés par la première analyse ont fait l'objet d'une seconde analyse (Figure 33). A défaut d'observer une discrimination franche de tous les sites, on peut dégager des tendances d'influence pour certains d'entre eux. Tout d'abord le canal des Landes se distingue du groupe central à cause de sa contamination spécifique en hexazinone. La Leyre semble être plus influencée par la présence d'acétochlore et acétochlore-OA, alors que le Bétey se différencie à la fois par une contamination forte en diuron et acétochlore-ESA, et par une absence de métolachlore-OA. Les trois derniers cours d'eau (craste de Nézer, Cirès, canal des Etangs) semblent supporter des profils de contamination similaires et moins spécifiques.

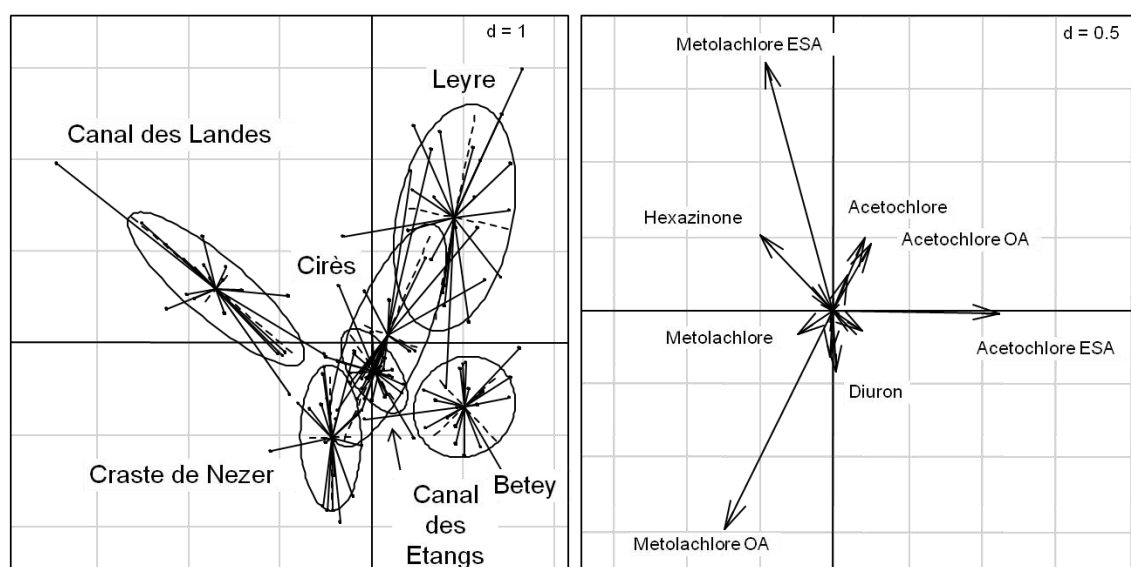


Figure 33. Analyse linéaire discriminante des profils de contamination des six cours d'eau non différenciés dans la première analyse. Projection des couples date-site groupés par site (a) et projection des molécules les plus discriminantes (b). Eigen values : 0,828 ; 0,643 (logiciel R).

Cette approche descriptive pourrait être enrichie en intégrant par la suite une catégorisation des usages de chaque bassin versant de manière à corrélérer *in fine* la présence des molécules avec un type d'usage (par exemple relier le centre d'enfouissement à la contamination en isoproturon à Ponteils).

2.6. Aspects écotoxicologiques et impact sur le périphyton benthique

D'un point de vue écotoxicologique, le risque local a tout d'abord été évalué en confrontant les concentrations mesurées aux valeurs de PNEC de chaque molécule (predicted non effect concentration). Il ressort de cette interprétation que seul le diuron a été quantifié à des concentrations supérieures à sa PNEC dans le ruisseau du Bourg et à seulement trois dates (juin 2010, octobre et novembre 2011). Cependant les valeurs de PNEC ne sont disponibles que pour quelques molécules (acétochlore, azoxystrobine, bentazone, DCPMU, dichlorprop, diuron, isoproturon, linuron, mecoprop, métolachlore, cf. chapitre I), qui dans notre cas, ne sont pas les composés dominants. Par ailleurs, les méthodes de détermination des PNEC peuvent parfois être assez rudimentaires, en ne prenant en compte qu'une seule espèce et négligeant ainsi la diversité biologique réelle des sites. Par conséquent ces résultats d'évaluation du risque écotoxicologique sont à prendre avec précaution. Toutefois, d'autres méthodes plus fines d'évaluation de l'impact toxique des contaminants aquatiques se développent, dont les tests écotoxicologiques sur le biofilm

à plusieurs échelles de complexité biologique, et basés sur différents descripteurs fonctionnels ou structurels (Dorigo *et al.*, 2007; Bonnineau *et al.*, 2010; Ricart Viladomat, 2010; Corcoll *et al.*, 2011).

Le biofilm, également désigné comme périphyton benthique ou phytobenthos, est un compartiment biologique composé d'un agrégat de microorganismes à courte durée de vie dominé par les diatomées. Dans les milieux aquatiques, ces organismes sont les premiers à interagir avec les substances dissoutes (Sabater *et al.*, 2007), dont les résidus de pesticides. Ils sont donc des indicateurs sensibles de la pression toxique environnementale, à plus forte raison lorsque les tests sont effectués sur des communautés autochtones (Ricart *et al.*, 2009; Tlili *et al.*, 2011).

Considérant les conclusions relatives à la contamination des tributaires du Bassin d'Arcachon mentionnées plus haut, ainsi que le manque de données écotoxicologiques pour certains composés (dont les contaminants majoritaires), une étude écotoxicologique de l'impact des métabolites des chloroacétanilides a été engagée par Vincent Roubex (Irstea, Carma) sur le périphyton benthique autochtone, avec notre soutien analytique. Cette étude a eu pour but de comparer les toxicités des molécules mères et de leurs métabolites, d'évaluer l'impact à différents niveaux de complexité biologique, et enfin d'évaluer l'acquisition de tolérance induite par les contaminations en pesticides au sein des communautés. Ce travail est résumé dans une publication qui figure ci-après (Roubex *et al.*, 2012).

2.7. Publication "Assessing the impact of chloroacetanilide herbicides and their metabolites on periphyton in the Leyre River (SW France) via short term growth inhibition tests on autochthonous diatoms"

Vincent Roubéix, Vincent Fauvelle, Juliette Tison-Rosebery, Nicolas Mazzella, Michel Coste, François Delmas

J. Environ. Monit. 2012, 14, 1655

Abstract

The Leyre River is the main tributary to the Bassin d'Arcachon lagoon. Herbicides belonging to the chloroacetanilide class have been found in the river (S-metolachlor and acetochlor) as well as some of their metabolites at higher concentrations. As the environmental toxicity of these molecules is not well known, ecotoxicological tests have been carried out on river periphyton at different levels of biological diversity: from the clone of one diatom species (*Nitzschia nana*) to the population of the same species (several clones) up to the multi-specific species community dominated by diatoms. Moreover, tests were performed on diatoms coming from an unpolluted upstream site and from a contaminated downstream site, in order to investigate possible tolerance acquisition to pollutants. The method consisted in measuring diatom growth inhibition at different doses of each substance from the increase of chlorophyll-a concentration after 4 days. It resulted that acetochlor was clearly more toxic than S-metolachlor at all levels of biological diversity. EC50 values estimated from the tests suggest no effect of contaminants on diatom growth or biomass in the river. The toxicity of the metabolites appeared very low compared to that of their parent compounds. No difference in tolerance to the herbicides was demonstrated between summer diatom communities from the two sites in spite of different specific compositions. However, concerning the populations of *N. nana* isolated in winter following the highest herbicide concentrations in the river (about 0.5 mg L⁻¹), the downstream population showed a higher tolerance to acetochlor but there was no co-tolerance to S-metolachlor. Thus, it appeared that acetochlor represents the highest toxic pressure on periphyton among the other contaminants in the Leyre River.

1. Introduction

The Leyre River is the major tributary to the Bassin d'Arcachon, a coastal lagoon located on the SW French Atlantic coast. It drains a lowland region (Les Landes) characterized by sandy soils, dominated by pine forest with poor urbanization except by the shore. The recent occurrence of ecological disturbances in the lagoon has repeatedly led to the sale of Arcachon oysters being forbidden due to unexplained toxicity tests (mice tests) (Miossec *et al.*, 2009), regression of seagrass meadows of *Zostera* spp (Plus *et al.*, 2010) or algal blooms (Manaud *et al.*, 1994), and has raised suspicions of an alteration of river water quality caused by changes in land use. In the 1950's, with the aim of preventing dangerous fires spreading through the pine forests, limited deforestation took place in the catchment for the development of intensive agriculture (irrigated islands) dominated by maize cultivation (Beuffe et Vernier, 1999). Although the forest cover remained stable, land use evolved in the 90's toward more diversification and intensification of these islands with an increase in various vegetable crops. Among the several ecological consequences of intensive agriculture, attention was first paid to the increase in nitrogen load to the coastal zone and to the risk of eutrophication (Rimmelin *et al.*, 1998; De Wit *et al.*, 2005). The presence of pesticides at the mouth of the Leyre River and in the lagoon and their potential impact on the aquatic ecosystem have been only recently pointed out (Auby *et al.*, 2007). Herbicides belonging to the chloroacetanilide class were quantified at significant concentrations in winter and spring in the Leyre River (up to 50 ng L⁻¹). A more recent survey using passive samplers showed that S-metolachlor and acetochlor were the two dominant active compounds in the river (Fauvelle *et al.*, 2011). Their presence is consistent with the land use in the catchment since these herbicides are commonly used to control undesirable grass and weed growth in corn crops but also for the production of some vegetables (S-metolachlor). Although some data exist on the ecotoxicity of these chemicals, very little is known about the environmental impact of the degradation products (metabolites) into which the herbicides naturally degrade in soils and in surface or groundwater. However, several studies have warned that these molecules, which sometimes appear in natural systems at much higher concentrations than their parent compounds, should not be neglected (Clark et Goolsby, 2000; Postle *et al.*, 2004; Hladik *et al.*, 2005). River periphyton is a biological compartment made up of the aggregation of microorganisms on an immersed substrate (biofilm). This fixed biomass

composed of short-living organisms is a convenient and reactive indicator of water contamination that can be easily related to the concentration of toxicants measured at a given site (Sabater *et al.*, 2007). Diatoms are a major constituent of the periphyton giving the biofilm a usual brown colour in rivers. As primary producers, they are at the base of lotic trophic webs. The specific composition of their communities is used for the bioindication of overall water quality (organic and trophic pollution) (Prygiel *et al.*, 1999). Diatoms are also a common test organism in ecotoxicological studies. Tests of chemical products or natural water samples are usually conducted on standard species from international collections. However, in order to study the impact of a contamination on a given aquatic system, it is more relevant to use autochthonous species for two reasons: (1) these species are more representative of the system under study and can thus better account for the real impact of the toxicants and (2) autochthonous diatoms from different sites presenting contrasted pressures of pollution can exhibit adaptations which are an indication of the real *in situ* effect of the contaminants. Indeed, at the species scale, it was demonstrated that diatom populations regularly exposed to contaminants have higher tolerance (Takamura *et al.*, 1989; Ivorra *et al.*, 2002). The same observation at the community scale gave rise to the PICT (Pollution-Induced Community Tolerance) concept which has been notably tested with lotic periphyton and various types of contamination (Blanck, 2002; Dorigo *et al.*, 2007; Pesce *et al.*, 2010; Rotter *et al.*, 2011). In both cases, the 'tolerance approach' is essentially comparative and requires a reference site. It reveals minor physiological effects on organisms and measures the exposure to toxicants indirectly. In this study, short-term growth inhibition tests were carried out with diatoms at different levels of biological diversity (clone, population and community) originating from a downstream contaminated site and an upstream unpolluted site. The objectives were (1) to compare the toxicity of the major contaminants detected in the Leyre River: the chloroacetanilide herbicides S-metolachlor and acetochlor and two metabolites for each of them, metolachlor oxanilic acid (OA), metolachlor ethane sulfonic acid (ESA) and, acetochlor OA and acetochlor ESA, (2) to compare the toxicity of the herbicides at different biological diversity levels and (3) to investigate the diatom tolerance induction at the downstream site due to river contamination.

2. Materials and methods

2.1. Study area

The Leyre River is 120 km long and has a NW orientation. Its mean discharge is about $20 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ which represents 77 % of the freshwater input into the Bassin d'Arcachon lagoon. The catchment has a surface of 2000 km² and is 84 % covered by forest (mostly pine – *Pinus pinaster*) whereas agriculture occupies 13 % of the drainage area. It has a low slope and is characterized by sandy soils with high permeability and a shallow aquifer (Rimmelin *et al.*, 1998). The region has an oceanic climate and receives about 800–1000 mm rainfall per year. Two sites were considered in this study: a downstream site, located near the mouth of the river at the Lamothe bridge and an upstream site, not directly on the Leyre River but on a small tributary (Rebec stream) which flows 4 km across a forested area without urbanisation, on the left bank of the Leyre near the town of Mios (Figure 34). At both sites, the water is moderately acid. The mean pH measured was 6.8 upstream and 6.9 downstream. The conductivity was usually in the range of 150–200 mS cm⁻¹ at both sites. Although the downstream site is under dynamic tidal influence, no salt intrusion was observed during the study period.

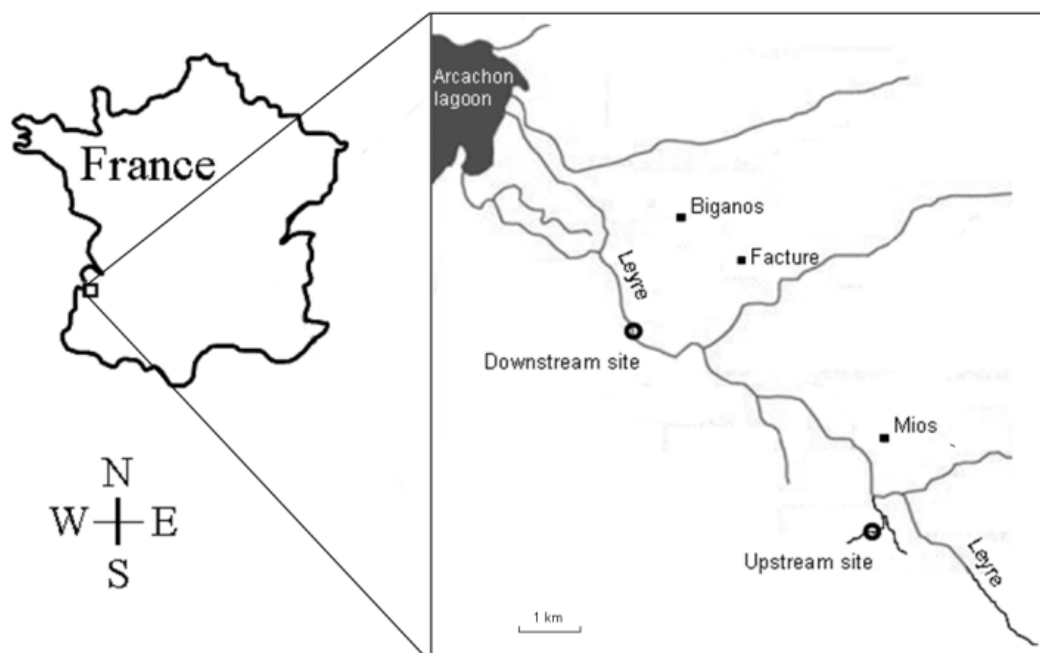


Figure 34. Location of the two sampling sites on the Leyre River watershed.

2.2. Chemical analyses

The concentrations of the two herbicides and their metabolites were measured in samples from the field and from tests to assess river contamination and to check the accuracy of the dose applied to diatoms. Because of their different chemical properties (log K_{ow} , pKa, solubility), the parent compounds and their metabolites were analysed separately using two different analytical methods. Each method was validated according to the recommendations of French standard NF T90-210. Sample preparation was controlled by evaluating spiked water recovery and extraction surrogate recovery within the sample, while the analysis was controlled by checking the accuracy of two calibration points.

2.2.1. Herbicides

Time-weighted average concentrations of 33 pesticides including S-metolachlor and acetochlor were sampled *in situ* by polar organic chemical integrative samplers (POCISs) (Alvarez *et al.*, 2004; Mazzella *et al.*, 2010) and analysed by HPLC-ESI-MS/MS (Dionex ultimate 3000-ABS API 2000). POCISs were deployed for exposure periods of four weeks, from March 2010 to July 2011. In the event of the loss of a POCIS, a grab sample was taken and concentrated by solid phase extraction (SPE). Because of the high concentrations applied in laboratory tests, samples from the tests were filtered with 0.45 mm regenerated cellulose (Whatman GmbH) and diluted before internal standard addition and direct injection. This analytical method is detailed in Lissalde *et al.* (2011).

2.2.2. Metabolites

As POCIS is not suitable for the sampling of highly hydrophilic or anionic compounds, metolachlor ESA, acetochlor ESA, metolachlor OA and acetochlor OA were monitored *in situ* by spot sampling every four weeks. Environmental samples were concentrated by SPE in acidic conditions whereas the laboratory test samples were treated in the same way as the parent compounds, as detailed previously. Off-line SPE-HILIC-ESI-MS/MS analysis is described in Fauvelle *et al.* (2010) and enables the quantification of nineteen acidic herbicides including the four target compounds.

2.3. Ecotoxicological tests

2.3.1. Biological material

2.3.1.1. Monospecific tests

In January 2011, periphyton was sampled by scraping the surface of immersed stones at the two sites; it was then suspended in filtered water from the site it came from. Micromanipulation under the inverted microscope led to the isolation in liquid medium of three strains of *Nitzschia nana* from each site. This species was chosen for the monospecific approach for three reasons: (1) it is a typical species of the Landes region frequently occurring in rivers or drainage channels (M. Coste, pers. comm.), (2) it was found to be easy to grow in culture exhibiting a high growth rate and (3) it was one of the only species found systematically at both study sites (upstream and downstream). The clones of *N. nana* were first grown separately in filtered sterile water from their site of origin, enriched with nutrients of the WC culture medium (Guillard et Lorenzen, 1972). They were then grown in 1 % agarose based on the same growth medium and stored at 4 °C until use for the tests. Ten days prior to the tests, the clones were transferred back into liquid medium and after one week, the medium was replaced and the clones were ready for the experiments. The first clone isolated from the upstream site was used to assess the toxicity of the herbicides and their metabolites. To test the sensitivity of *N. nana* populations towards the herbicides, the three clones of each site were mixed at equal cell abundance just before the tests. All tests were performed on 2 days old mono or multiclonal cultures of *N. nana*.

2.3.1.2. Test on communities

In June 2011, artificial substrates (glass slides) were placed at the two sites in plastic racks. Three weeks later, the periphyton that colonized the slides was scraped off with a razor blade. It was suspended in filtered river water and kept cold until return to the lab where the tests on diatom communities were started the same day. A 5 mL sample of each suspension was digested in boiling H₂O₂ solution and in a hydrochloric acid solution for examination of diatom frustules under optical microscope (× 1000) and determination of the species composition of the communities according to taxonomic literature and recent nomenclature updates.

2.3.2. Test conditions

All tests were performed in a culture chamber at 23 °C under 130 mmol m⁻² s⁻¹ illumination with a 14 : 10 light : dark cycle. Periphyton was grown in 50 mL glass bottles except for the tests of the anionic metabolites which were done in 40 mL plastic flasks as these molecules are more stable in plastic. For each test 5 test concentrations were run in triplicate chosen on a logarithmic scale plus 5 controls. The test media were prepared by diluting a 0.2 mm filtered concentrated solution (100 ppm) of herbicide or metabolite with culture medium. The concentrated herbicide solutions were obtained from the dissolution in culture medium of the pure chemicals purchased from Dr Ehrenstorfer GmbH. Among the two stereoisomers of metolachlor, the S-form was used exclusively for the tests. Indeed, although the HPLC analysis was not able to separate the two isomers, the R-form was probably not present in the river since the racemic metolachlor has been withdrawn from sale in France since 2003. Test concentrations were set at very high levels compared to environmental concentrations to reveal any short-term effects on growth and to calculate an EC50 value. They were the same and ranged from 0 to 75 000 mg L⁻¹ for all tests on the monoclonal culture of *N. nana*, but they were slightly adjusted for the other tests according to the toxicity of the two herbicides. The culture medium was the artificial WC growth medium for the monoclonal tests, whereas it was sterile filtered river water collected in January from the upstream site and enriched with nutrients of the WC medium for the higher biological diversity levels. A 1 mL sample of each dilution of the concentrated solutions was taken in order to check the accuracy of the initial concentrations. Also the 3 cultures at the lowest toxic dose were sampled at the end of tests in the same way to estimate the loss of toxicant concentration in solution. The samples were frozen until HPLC analysis. At the start of the tests, 1 mL aliquots of periphyton culture suspended with a magnetic stirrer were added to 30 mL of test medium. The taps of the culture flasks were not completely closed to allow gas exchange.

2.3.3. Growth measurements

The determination of diatom growth was based on the increase of chlorophyll-a concentration (chl-a) measured by in vivo fluorescence using a bbe Fluoroprobe with a 25 mL cuvette. The device had been previously calibrated using benthic diatom isolates to

specify the spectral fingerprint and better discriminate the chl-a related to diatoms from that contained in other microalgae (Gilbert, 2010). In this way, the proportion of diatoms in the periphytic microalgal communities tested was estimated at 65 % total chl-a upstream and 80 % downstream. For each test, an additional culture was prepared for the determination of the initial diatom chl-a (Table 7). Growth was estimated after 4 days from the final chl-a. A last measurement of chl-a was done after 6 days in at least one control culture to check that the diatoms were still in a growth phase after 4 days and could still increase their biomass. Before each measurement with the Fluoroprobe, the periphyton grown at the bottom of the culture flasks was gently rubbed with a soft brush to resuspend it.

Table 7. Parameters of the ecotoxicological tests on diatoms concerning chemical conditions and biological responses

	C_0^a (CV) (n=5)	$(C_4 - C_0)/C_0^b$	chl-a t_0^c $\mu\text{g.L}^{-1}$	control chl-a t_4^d $\mu\text{g.L}^{-1}$ (CV) (n=5)	control chl-a t_6^d $\mu\text{g.L}^{-1}$	EC_{50} $\mu\text{g.L}^{-1}$	95% c.i. $\mu\text{g.L}^{-1}$
<i>tests of molecules</i>							
S-metolachlor	83% (21%)	nd	3.5	47.8 (4.9%)	112.3	≈ 18800	
acetochlor	79% (19%)	nd	3.8	52.6 (3.5%)	99.3	3067	[2154;4639]
metolachlor-OA	86% (14%)	-40%	3.4	34.7 (3.2%)	nd	nd	nd
acetochlor-OA	108% (14%)	-15%	3.5	31.9 (2.5%)	98.9	nd	nd
metolachlor-ESA	105% (6%)	-6%	3.4	41.8 (3.9%)	98.4	nd	nd
acetochlor-ESA	67% (27%)	-5%	3.5	45.8 (3.0%)	98.2	nd	nd
<i>tests on populations</i>							
S-metolachlor upstream	69% (19%)	3%	3.35	24.8 (1.6%)	169.8	20580	[18966;22072]
S-metolachlor downstream	idem	-1%	3.1	16.8 (9.5%)	193.7	18179	[15823;20522]
acetochlor upstream	92% (5%)	-12%	3.4	27.0 (1.2%)	165.7	1359	[1017;1733]
acetochlor downstream	idem	-16%	3.5	32.4 (10.2%)	176.9	6481	[4814;8756]
<i>tests on communities</i>							
S-metolachlor upstream	84% (6%)	-26%	6	28.0 (11.8%)	77.8	5888	[4337;7607]
S-metolachlor downstream	idem	-32%	5.4	41.7 (10.5%)	135.7	10271	[6642;15279]
acetochlor upstream	78% (3%)	-44%	6.45	30.1 (5.2%)	58.1	833	[605;1063]
acetochlor downstream	idem	-34%	5.5	38.6 (6.2%)	84.4	1445	[777;2441]

^a Initial effective concentrations expressed as a percentage of the expected nominal concentration

^b Relative loss in the concentration of the toxicant based on the difference between the concentration after 4 days (C_4) and C_0

^c Initial chlorophyll-a concentration in the culture flasks

^d Chlorophyll-a concentration at the end of the tests (t_4) and 2 days after (t_6)

2.3.4. Data interpretation

For each test, diatom growth at the various concentrations of toxicant was normalized to the mean growth in controls (Table 7) and the Hill model (1910) was used to fit the data by non-linear regression using R software (minpack.lm package):

$$g(x) = \frac{100}{1 + \left(\frac{x}{EC_{50}}\right)^b}$$

where g is the relative growth of diatoms with regard to controls, x is the herbicide concentration, b is a model parameter and EC_{50} is the 50 % effect concentration. As most of the variability in the concentration of the molecules in the test flasks came from the incomplete dissolution of the pure chemicals and the uncertainty of the HPLC analysis (20 %), the nominal concentrations were corrected by the mean ratio of the measured vs. expected concentration for each test (Table 7). The toxicological parameter EC_{50} quantifies diatom tolerance to the different toxicants. A bootstrap analysis on weighted residuals (1000 simulations) was performed using R software to determine a 95 % confidence interval. When appropriate the Least Observed Effect Concentration (LOEC) was determined by pair comparisons of the different treatments with the controls using the one-tailed Wilcoxon test.

3. Results and discussion

3.1. The herbicides in the river

At the upstream site, several sampling campaigns at different seasons revealed a very low contamination level since the chloroacetanilide herbicides were not detected and their metabolites when present never exceeded the concentration of 30 ng L^{-1} . The results confirmed the use of this site as a reference to assess herbicide effects on diatoms at the downstream site where the contamination was high. There, chloroacetanilides and their breakdown products were the major pesticides quantified. Bentazon was also found during the survey at low concentrations ($< 100 \text{ ng L}^{-1}$) and trace levels of diuron, diuron desmethyl, alachlor and AMPA (breakdown product of glyphosate) were sometimes detected. The mean concentrations of the herbicides metolachlor and acetochlor ranged there between 0 and 0.5 mg L^{-1} from May 2010 to July 2011 (Figure 35). The metabolites of the herbicides were generally present at much higher concentrations than their parent compounds. They were quantified throughout the year with maxima over 1 mg L^{-1} . There was a marked increase in concentration during November 2010. This trend is also visible for the herbicides metolachlor and acetochlor in spite of missing data in November and January due to the loss of passive samplers. This early increase of concentrations compared to the herbicide

application period for agriculture (from March at pre-emergence to mid-May for post-emergence sprayings) can be explained by the leaching of the chemicals accumulated in soils due to heavy autumn rain after the summer dry season and the rise of underground water level which accelerates the runoff of water, pesticides and breakdown products into the river. The fact that the metabolites occurred at higher concentrations in river water than their parent compounds may result from their higher stability (lower biodegradability) or a higher solubility in water (the metabolites are more polar and soluble than their parent compounds).

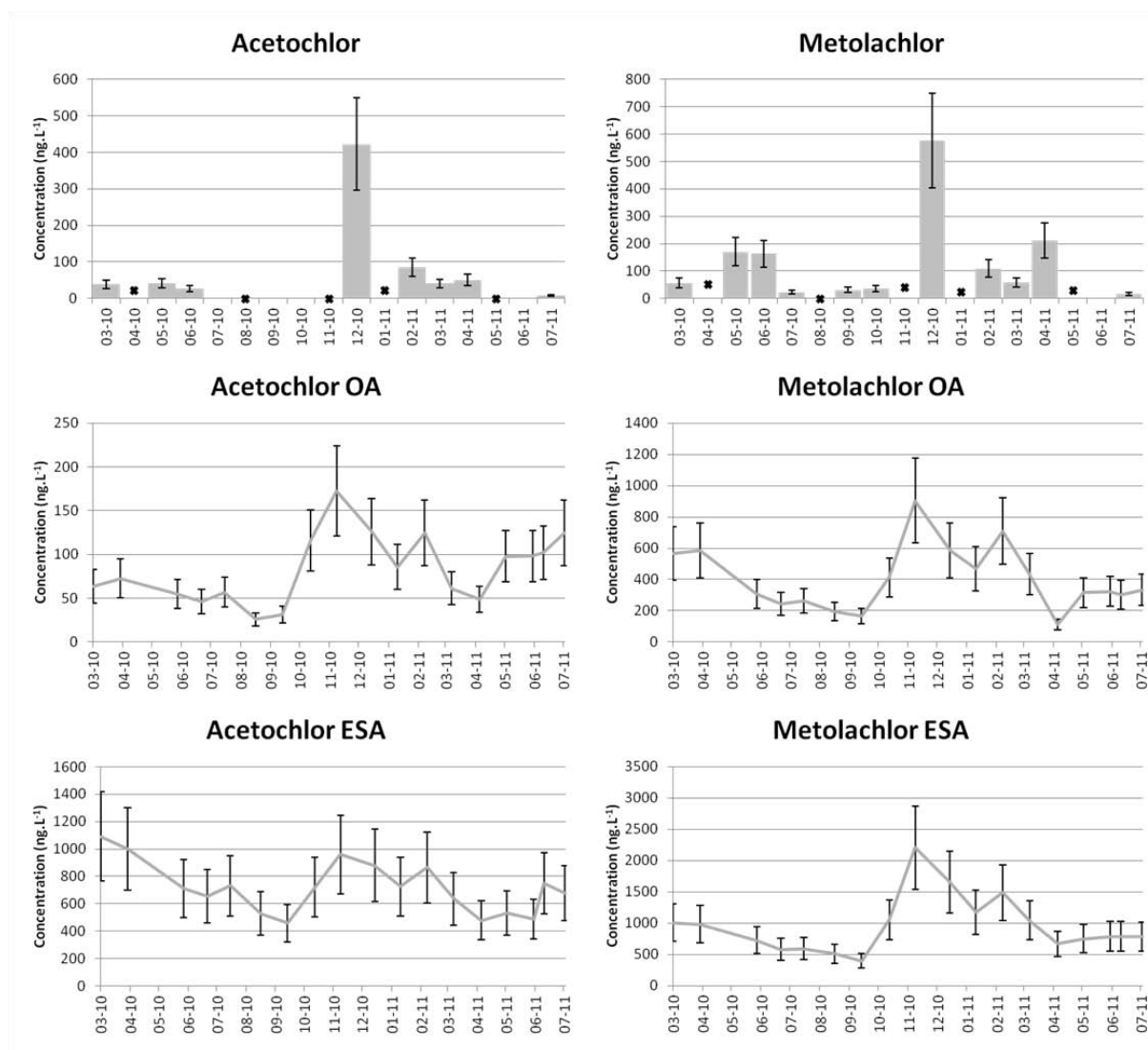


Figure 35. Concentrations of the two chloroacetanilide herbicides and their metabolites under study at the downstream site of the Leyre River (period from March 2010 to July 2011, timeweighted average concentrations over 1 month for the parent compounds and spot measurements for the metabolites; Crosses stand for spot samples when POCIS were lost).

3.2. Comparative toxicity of herbicides and their metabolites

3.2.1. Test conditions

The targeted nominal concentrations of the molecules tested were approximately achieved though effective initial concentrations were often slightly under expected values (Table 7), probably because of the incomplete dissolution of the chemicals in the mother solution. The diatom growth was always significant after 4 days with an increase of chl-a by a factor of at least 5 and it was still going on since chl-a had further increased after 6 days (Table 7). The conditions for growth among the culture flasks were homogeneous as illustrated by the low variability of the control replicates (CV < 12 %). The stability of the toxicants throughout the duration of the tests was satisfying. Metolachlor OA exhibited the sharpest drop in concentration (40 %). The two herbicides decreased more in concentration in the test with multi-species communities probably because the biofilm in the culture flasks incorporated various heterotrophic microorganisms able to degrade the molecules. The presence of the metabolites at the end of the tests with communities, as revealed by supplementary analyses, supports this hypothesis. However, the drop in concentration could also be due to adsorption onto the larger amount of particulate matter incorporated into the bottles with the biofilm extracts.

3.2.2. Comparison of the acute toxicity of the molecule to a single clone

The tests of the 2 herbicides and their metabolites on an autochthonous monoclonal culture allowed us to compare the toxicity of the different molecules. It appeared that acetochlor was clearly more toxic than S-metolachlor to the diatoms (Figure 36). The EC50 for acetochlor was estimated at 3067 mg L⁻¹. For S-metolachlor, the toxicity was so low that the EC50 could not be precisely determined (only one point on the slope of the curve). Nevertheless its value can be estimated at around 18 800 mg L⁻¹. The LOEC values were 474 and 11 850 mg L⁻¹ for acetochlor and S-metolachlor respectively, confirming the higher toxicity of acetochlor. This is consistent with the results of a study on the toxicity of chloroacetanilide herbicides, showing that acetochlor more strongly inhibited the reproduction of the green algae *Scenedesmus vacuolatus* than racemic metolachlor did (Junghans *et al.*, 2003). It was concluded by these authors that the herbicides had the same cellular mode of action, i.e. the inhibition of very long chain fatty acids synthesis (Böger *et*

al., 2000) and that their effects were additive in mixture. The differences in toxicity between molecules were found to be correlated to their lipophilicity although the difference in log *Kow* for acetochlor and metolachlor was relatively low (3.37 vs. 3.24 respectively). Another study with green algae reported opposite differences in the toxicity of the two herbicides with the species *Scenedesmus quadricauda*, *S. obliquus* and *Chlorella vulgaris* (Ma *et al.*, 2003). Thus, it cannot be ruled out that acetochlor is more toxic than metolachlor to all microalgae. In the literature, EC50 values based on short-term growth inhibition are mostly over 1 mg L⁻¹ for these two herbicides which is extremely high compared to concentrations measured in the Leyre River. Unlike their parent compounds, the metabolites had no effect on diatom growth in spite of the very high doses applied (Figure 36). Thus, these biodegradates, which reach high concentrations in the river, seem to be less concerning than the original forms. Their production requires the dechlorination of the chloroacetanilides. This indicates that the chlorine element probably plays an important role in the toxicity of the parent herbicides. It is important to notice that only 2 metabolites of each herbicide were examined in this study although several others may occur at high concentrations in the environment, including chlorinated degradates (Hladik *et al.*, 2005), and their toxicity still has to be investigated. Given the low toxicity of the metabolites OA and ESA, only the two herbicides were tested on the diatoms at higher biological diversity levels.

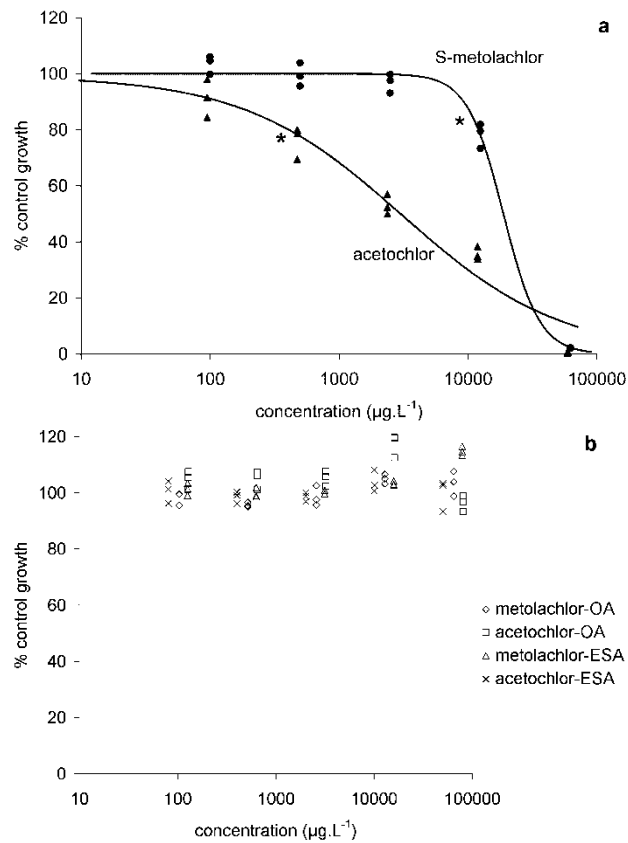


Figure 36. Results of the ecotoxicological tests of the two herbicides (a) and their metabolites (b) on the growth of a clone of *Nitzschia nana*. The stars (*) indicate the LOEC.

3.2.3. Herbicide relative toxicities at higher diversity levels

Tests on diatoms at higher biological diversity levels gave more realism to the study. Instead of only one clone, three clones of *N. nana* from each site were used; this was expected to be more representative of the populations of the species. Diatom communities among the biofilm were also directly submitted to the tests giving the closest estimation of the real *in situ* sensitivity of diatoms in the river. At both levels, the toxicity of acetochlor was always significantly higher than that of S-metolachlor wherever the diatoms came from (up or downstream, Figure 37 Figure 38 Figure 39 Figure 40). This strengthens the previous findings that acetochlor is on average (among all the species) more toxic than S-metolachlor. Tests with diatom communities have resulted in lower EC50 values than with *N. nana* alone. In June, the species *N. nana* was less abundant than in winter, representing less than 1 % of the community. The tolerance of the community as a whole should approximately correspond to the mean of the tolerance of each species individually weighted by their

relative abundance in the community, if one disregards biotic interactions. This means that *N. nana* is probably more tolerant to these herbicides than the dominant diatom species which composed the communities. Accordingly, in another study by the authors (Roubeix *et al.*, 2011a), lower EC50 was found for two other freshwater periphytic diatoms (*Surirella angusta* and *Achnanidium minutissimum*). Nevertheless, the toxicity levels were still very low and no short term effects of the herbicides on diatom biomass can be expected in the Leyre River. Other herbicides in other contexts presented more concern as EC50 for diatoms were of the order of magnitude of concentrations measured *in situ* (Roubeix *et al.*, 2011b).

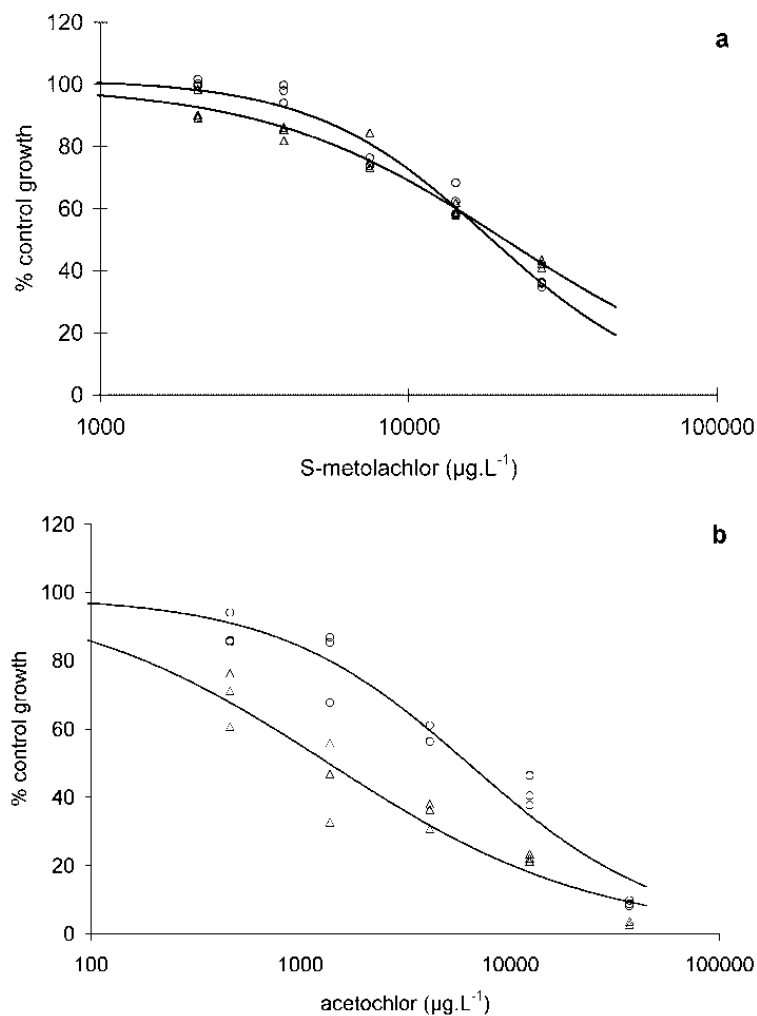


Figure 37. Results of the ecotoxicological tests of S-metolachlor (a) and acetochlor (b) on the growth of an upstream (Δ) and a downstream (O) population (3 clones each).

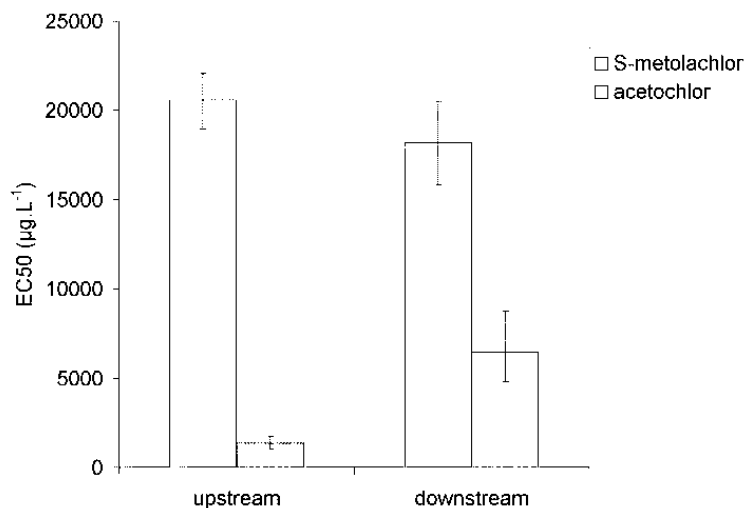


Figure 38. EC₅₀ values for the up and downstream populations of *Nitzschia nana* (bars indicate the 95 % confidence interval).

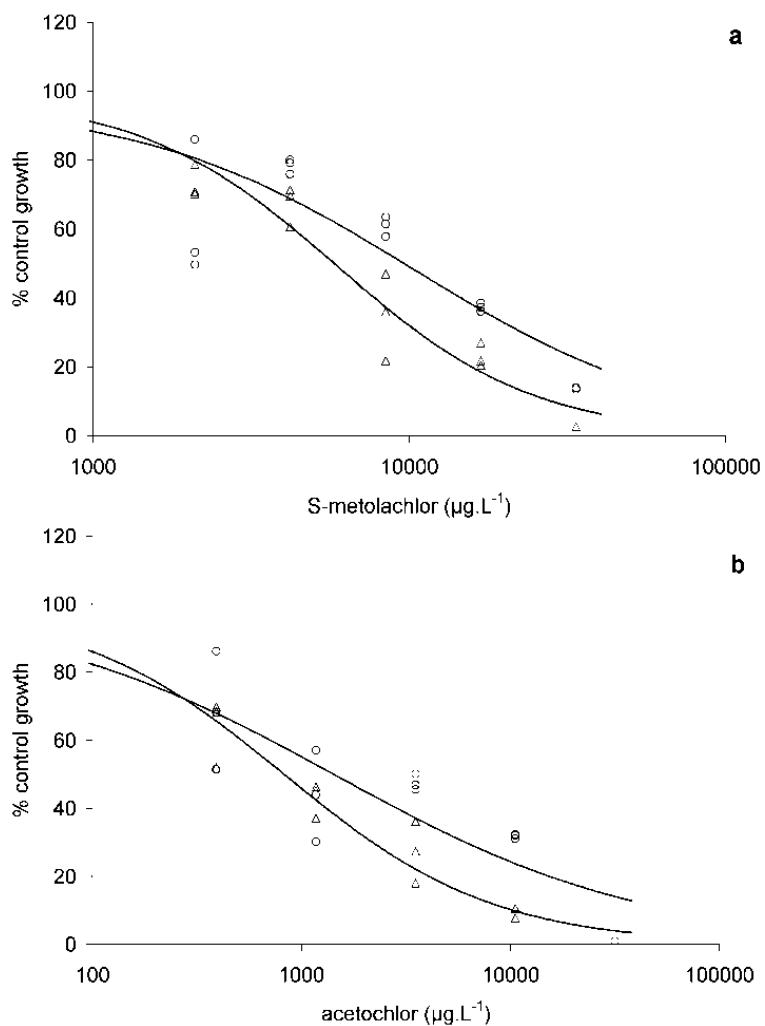


Figure 39. Results of the ecotoxicological tests of S-metolachlor (a) and acetochlor (b) on an upstream (Δ) and a downstream (O) diatom community.

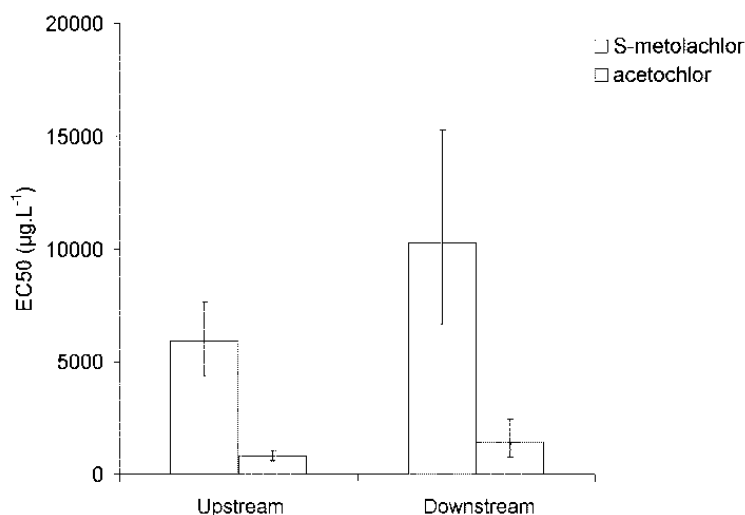


Figure 40. EC₅₀ values of the two herbicides for the up and downstream diatom communities (bars indicate the 95 % confidence interval).

3.3. Utility of inter-site comparisons

LOEC and EC₅₀ values did not suggest any *in situ* impact of the herbicides at concentrations measured in the river. However, the comparison of diatom sensitivity from a contaminated and a reference site was used to reveal any adaptive reaction of the diatoms from the natural environment to a toxic effect caused by the herbicides. The comparison was carried out at two different periods of the year with contrasting contamination levels downstream and, at two levels of biological diversity. The toxicity curves were very similar for the tests with S-metolachlor on the populations of *N. nana* from both sites (Figure 37). There was no significant difference in EC₅₀ values (Figure 38). However, the downstream population was significantly more tolerant than the upstream one to acetochlor with a five-fold higher EC₅₀. The two herbicides were also tested on diatom communities sampled from both sites in June. The specific composition of the communities from the two sites is presented in Figure 41. The dominant species (*Karayevia oblongella*) was the same, but the communities clearly differed by the relative abundance of the other dominant species (e.g. *Eunotia bilunaris*, *Achnantheidium minutissimum*, *Cocconeis placentula*, *Nitzschia palea*). Nevertheless, the tolerance of these diatom communities to each herbicide was not significantly different (Figure 39, Figure 40) although a trend toward higher tolerance downstream was apparent. Induction of periphyton tolerance has been reported as a response to increased concentrations of various toxicants in different rivers (Blanck, 2002; Dorigo *et al.*, 2007; Pesce *et al.*, 2010; Rotter *et al.*, 2011) and it has been referred to as the

concept of 'pollution-induced community tolerance' (PICT). The tolerance induction approach reveals a sublethal *in situ* effect of a contamination (Blanck, 2002). This 'minor' effect must be considered as an environmental impact because of the cost of adaptation, which often implies higher sensitivity to other pressures (Clements et Rohr, 2009; Roubex *et al.*, in press.). In this study, the tolerance induction observed was consistent with measured concentrations in the river and with the unequal toxicities of the two herbicides. Indeed in June, the herbicides were not detected at the downstream site and diatoms were not more tolerant than those from the upstream site. In December, similar levels of mean contamination by the two herbicides were recorded with the help of POCIS (about 0.5 mg L⁻¹), but in January tolerance induction was observed only to acetochlor. The highest toxicity of acetochlor (demonstrated in the tests) could explain why this herbicide had an effect on diatoms while the other, at the same concentration, did not. There was no induction of co-tolerance to the two herbicides in spite of their chemical similarity. This suggests that the modes of action of the two molecules are not exactly the same or that the mode of diatom tolerance to each chemical is different. It has to be emphasized that the use of *in situ* diatom tolerance for impact assessment is a more sensitive method than risk assessment *via* short-term growth inhibition tests on a single clone. From the first tests performed on the clone of *N. nana*, no effect of acetochlor at a concentration as low as 0.5 mg L⁻¹ could have been expected since the No Observed Effect Concentration (NOEC) was about 100 mg L⁻¹. When PICT is observed in a microalgal community, variations in relative abundance of the species from the reference community can indicate sensitivity or tolerance of the species to the contaminant under study (Pesce *et al.*, 2010). However, these assumptions may not be verified when the species are tested individually (Roubex *et al.*, 2011b). Several studies have demonstrated considerable variations in tolerance to a given toxicant within the same microalgal species (Takamura *et al.*, 1989; Ivorra *et al.*, 2002; Roubex *et al.*, in press.). These variations were correlated to toxic levels at the sites where the strains came from. They can thus be considered 'pollution induced'. The higher tolerance to acetochlor of the downstream population of *N. nana* in the Leyre River is a new example of pollution-induced tolerance at the population level. It is likely that tolerance induction in a community proceeds firstly by the selection of the most tolerant clones among each species and secondly by the elimination of the most sensitive species. This study showed that two communities having very different compositions may not present any differences in

tolerance to toxicants when contamination is low. Reciprocally, it is speculative to consider that variations in species composition reflect PICT since a large part of community adaptation to toxic stress can be intraspecific, therefore not visible from species composition. Bioindication methods which use variations of community composition to reveal environmental changes might suffer low sensitivity for the monitoring of river contamination by toxicants such as herbicides.

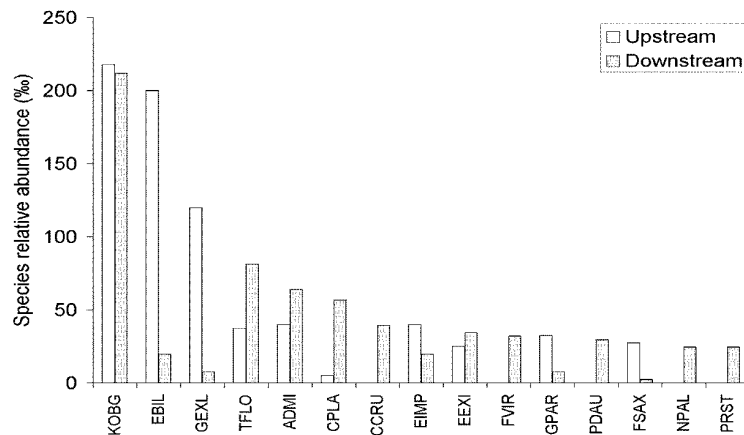


Figure 41. Composition of the diatom communities used for the ecotoxicological tests. Only the 15 most abundant species are represented.

3.4. Consequences for the lagoon ecosystem

In spite of dilution by entrance of marine water into the lagoon, the chloroacetanilide herbicides and their breakdown products were also found in the lagoon and principally in the most continental, eastern, part under the influence of the Leyre mouth (Fauvelle *et al.*, 2011). It would then be important to test their toxicity on different littoral organisms, not only microalgae but also reputedly sensitive organisms like oyster larvae. It is possible that, as observed for responses to nutrients in littoral environments, littoral organisms could show a stronger response to low concentrations of toxicants compared to freshwater organisms. Methods aiming at testing toxicity and tolerance acquisition at strain, population and community microalgal levels under lab controlled conditions could be easily transposed to salt water and associated species.

Conclusions

The application of a simple ecotoxicological method looking at a basic endpoint (growth inhibition) on autochthonous diatoms at various genetic diversity levels first allowed a comparison to be made of the toxicities of the main herbicides and their metabolites occurring in the Leyre River. Acetochlor was found to be clearly more toxic to periphyton than S-metolachlor and should be considered with more attention. The metabolites of the two herbicides, although they reach high concentrations in the river, appeared much less concerning than their parent compounds. Then, pollution-induced tolerance was shown by the comparison of herbicide toxicity to diatoms from reference and polluted sites in the same watershed. This represents an effect of longer term exposure *in situ*. Acetochlor generated a tolerance increase at the downstream contaminated site during the coldest months and was probably the main toxicant affecting periphytic diatoms in winter. The use of diatom populations of the same species from both sites demonstrated the importance of adaptation at intraspecific level. However, it is more convenient to perform tests directly on periphytic communities which integrate population tolerance acquisition and replacement of sensitive species by more tolerant ones. Comparative upstream and downstream growth inhibition tests on periphyton could be a useful method to assess *in situ* effects of a large diversity of toxicants in rivers.

Acknowledgements

The authors wish to thank Sylvia Moreira and Sophie Cao for their help in field work. They are also grateful to Brigitte Delest and Muriel Bonnet for their participation in the chemical analyses. Region Aquitaine and FEDER Aquitaine (OSQUAR program) and ANR RIPOST are thanked for financial support.

3. MODELISATION DE LA CONTAMINATION A L’INTERIEUR DU BASSIN D’ARCACHON



Figure 42. Localisation des points de prélèvements à l’intérieur du Bassin d’Arcachon.

Les travaux menés par l’Ifremer d’Arcachon sur la compréhension du fonctionnement hydrodynamique de la lagune (Plus et Durand, 2004; Plus *et al.*, 2006) permettent d’envisager la simulation de la dispersion des contaminants conservatifs depuis les tributaires vers le milieu océanique. Les résultats de la simulation peuvent être ensuite validés en les confrontant aux concentrations réelles mesurées par le Laboratoire EPOC-LPTC (thèse d’Angel Belles). Un travail préliminaire a donc été mis en place en collaboration avec les deux laboratoires en question afin de simuler la dispersion du métolachlore, contaminant caractéristique de la zone étudiée et considéré comme conservatif, entre le 17 juin 2010 et le 24 juillet 2011.

Le modèle MARS-2D développé et adapté par l’Ifremer à l’hydrodynamique du Bassin d’Arcachon (Plus et Durand, 2004; Plus *et al.*, 2006) prend en compte un grand nombre de variables (coefficient de marée, vent, débits des tributaires...) pour offrir une description fidèle des paramètres hydrologiques majeurs en tout point du Bassin (temps de renouvellement des eaux, courants, hauteur d’eau, flux résiduels, âge des masses d’eau).

Pour cette étude, seuls les apports en contaminant de la Leyre ont été considérés puisqu'ils représentent la quasi-intégralité des intrants (77,2 %). En effet, la concentration en métolachlore apporté dans le canal des Landes, Bourg, Lanton et Cirès n'excèdent pas les concentrations relevées dans la Leyre et les débits associés sont plus de 20 fois inférieurs (source DREAL Aquitaine).

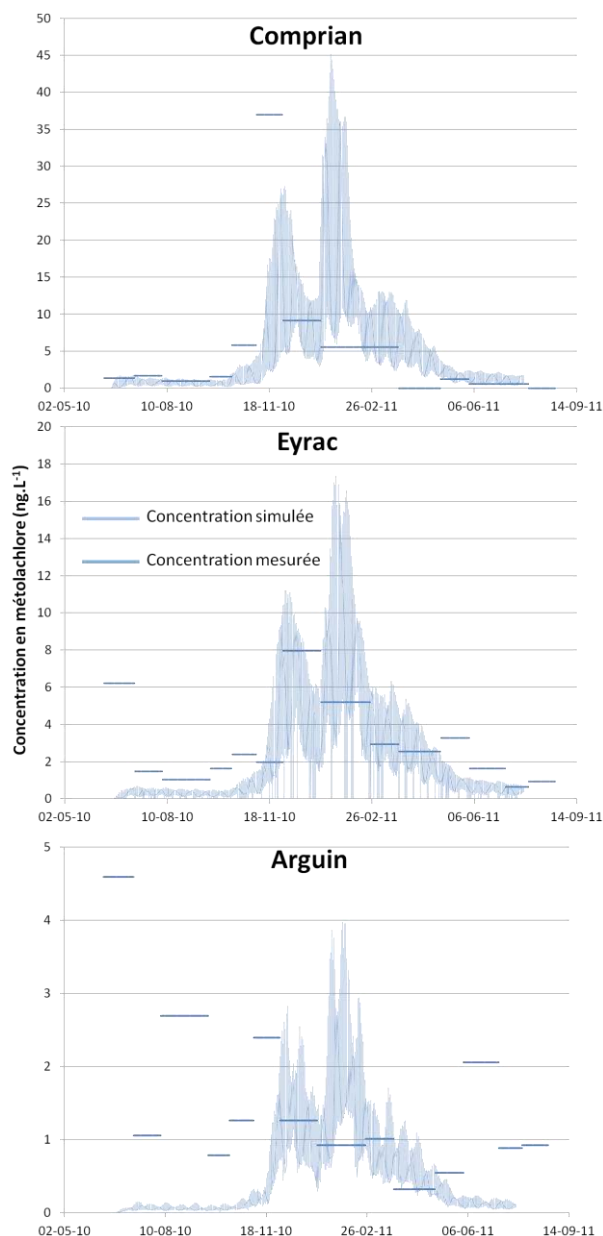


Figure 43. Comparaison des concentrations en métolachlore simulées avec le modèle de dissipation développé par l'Ifremer (Plus *et al.*, 2006) et mesurées par EPOC-LPTC à l'intérieur du Bassin d'Arcachon.

Ces travaux n'étant pas finalisés au moment de la rédaction de ce manuscrit, seuls des résultats préliminaires et partiels sont montrés. Trois sites ont été choisis parmi les 18 suivis par le laboratoire EPOC-LPTC pour représenter le gradient de contamination attendu depuis l'Ouest vers l'Est (Figure 42), et comparer les données simulées avec les données mesurées. La Figure 43 illustre cette comparaison avec en premier plan les concentrations moyennées sur le temps d'exposition mesurées par POCIS et en deuxième plan la chronique continue de contamination simulée. Tout d'abord, on remarquera l'effet de dilution effectif entre le fond du Bassin (Comprian) et la sortie du Bassin (Arguin). Ensuite, à défaut d'obtenir des chroniques simulées et mesurées parfaitement confondues, on observe des tendances similaires et des ordres de grandeur équivalents. La moins bonne correspondance des deux chroniques à Arguin peut se justifier d'une part à cause de la plus forte hydrodynamique du site (interface Océan-Bassin) et d'autre part à cause des teneurs mesurées très faibles qui engendrent une variabilité analytique plus importante (concentrations voisines des limites de quantification). Ces résultats sont néanmoins encourageants et méritent d'être approfondis en intégrant d'autres molécules et en validant les concentrations simulées dans des conditions limites (coefficient de marée, vent, débit de la Leyre, concentrations mesurées, etc.).

4. CONCLUSION PARTIELLE

Les résultats détaillés dans ce chapitre montrent tout d'abord que les profils annuels de contamination mesurés dans les tributaires du Bassin d'Arcachon sont le résultat du fonctionnement hydrologique spécifique des Landes de Gascogne. En effet, on assiste à des phénomènes de rétro-contamination hivernale des cours d'eau par la nappe phréatique une fois celle-ci rechargée. Par ailleurs, l'ensemble des cours d'eau semble majoritairement impacté par la maïsiculture, hormis quelques exceptions qui subissent une contamination forte et atypique (Bourg, Pontails) attribuable à des usages spécifiques (zone commerciale, golf, centre d'enfouissement technique).

D'autre part, une étude menée en collaboration avec l'Ifremer et le laboratoire EPOC-LPTC a montré qu'il était envisageable d'évaluer *a priori* la concentration en pesticides à l'intérieur de la lagune moyennant la connaissance des intrants. Ces résultats encore préliminaires s'avèrent être encourageants, mais nécessitent toutefois des travaux complémentaires. A cette occasion, la représentativité de l'échantillonnage a également été questionnée, notamment pour les composés acides qui sont soumis à une variabilité importante du fait de leur mode d'échantillonnage (prélèvements ponctuels).

Enfin, la quantification des herbicides anioniques a permis de mettre en évidence leur importance dans la contamination globale des tributaires du Bassin d'Arcachon. Les métabolites ESA et OA des chloroacétanilides se sont même révélés être les contaminants majoritaires. Malgré leur émergence à l'échelle mondiale, leur impact sur les organismes des milieux aquatiques demeure mal documenté. Une étude écotoxicologique a par conséquent été réalisée par Vincent Roubex (Irstea, équipe Carma), et a permis de montrer la faible toxicité des métabolites ESA et OA en comparaison de celle démontrée pour leurs molécules mères, grâce à l'application d'une méthode simple de comparaison de toxicité basée sur la mesure de l'activité photosynthétique. Une étude d'acquisition de tolérance des communautés a également permis d'identifier l'acétochlore comme étant la principale substance toxique ayant un impact sur les communautés périphytiques de la Leyre en période hivernale.

De manière plus globale, ces différentes observations mettent en lumière la nécessité de développer un échantillonneur passif capable d'accumuler les composés organiques acides.

Le chapitre suivant vise à faire avancer cette problématique, en explorant les différentes possibilités (types d'interactions mises en jeu entre les analytes et la phase réceptrice et géométrie de l'échantillonneur par exemple).

Chapitre IV.

Développement d'un échantillonneur passif pour les herbicides acides

Liste des tableaux

Table 8. Accumulation parameters on POCISs containing 200, 400 and 600 mg of sorbent (P-200, P-400 and P-600). Standard deviations between brackets.....	162
Table 9. Sampling rates (mL d^{-1}) and standard deviations between brackets for μ POCIS and DGT-HLB containing 200 and 400 mg of sorbent.....	164
Table 10. Sampling rates of POCIS containing HRX, HLB and MAX sorbent in drinking water (DW) and river water spiked with 50 mg L^{-1} of nitrate (RW) ^a	179
Table 11. Isotherm study. % relative standard deviation in parentheses (n=12).....	184

Liste des figures

Figure 44. Monophasic (b) and biphasic (a) modeling of 2,4-D behaviour on conventional POCIS. Biphasic model composed of linear (c) and exponential (d) regressions (n=3, bars=standard deviation).....	161
Figure 45. Uptakes and releases of DIA and DIA-d5 for POCIS containing 200, 400 and 600 mg of sorbent (P-200, P-400 and P-600). Monophasic (i=1) and biphasic (i=2) desorption modelling (n=3, bars=standard deviation).....	165
Figure 46. Releases of DIA-d5 and dicamba-d3 from μ P-200. Error bars show the standard deviation (n=3). Comparison between monophasic (i=1) and biphasic (i=2) modelling.....	166
Figure 47. Uptake in POCIS-HLB, POCIS-HRX and POCIS-MAX for neutral (acetochlor), neutral hydrophilic (methomyl) and acidic herbicide (MCPA) in drinking water (bars represent the standard deviation, n=3).....	180
Figure 48. Uptake of MCPA in POCIS-MAX for drinking water (squares) and river water (crosses) spiked with 50 mg L^{-1} of nitrate (bars represent the standard deviation, n=3).....	182
Figure 49. Uptake of DIA (solid symbols) and release of DIA-d5 (open symbols) from POCIS-MAX expressed in percent of K_{sw} for uptake and percent of initial amount for release (n=3, drinking water).....	185

1. AVANT PROPOS

Dans le chapitre précédent, le suivi environnemental des tributaires du Bassin d'Arcachon a montré la prévalence des herbicides et métabolites acides dans la classe de contaminants « pesticides ». Les limitations de l'échantillonnage ponctuel résumées dans le premier chapitre sont d'autant plus criantes pour ces composés, dont la mobilité est accrue par leur forte polarité et solubilité, provoquant ainsi une fluctuation plus importante de la contamination des cours d'eau. Cependant, il n'existe pour l'heure aucun dispositif capable d'échantillonner convenablement de tels composés. En effet, les échantillonneurs passifs développés pour les composés hydrophiles (par exemple POCIS ou Chemcatcher) atteignent rapidement leurs limites lorsqu'ils sont utilisés pour des molécules ayant un $\log K_{ow}$ inférieur à zéro (taux d'échantillonnage très faibles, atteinte rapide d'un équilibre thermodynamique ; Mazzella *et al.*, 2007).

Par conséquent, l'objectif ultime de ce travail de thèse consiste à développer un échantillonneur passif spécifique de ces composés organiques acides très hydrophiles, en se basant sur des dispositifs préexistants tels que le POCIS et le DGT. L'adaptation de ces outils a été envisagée de différentes manières :

- en augmentant la capacité de l'échantillonneur (choisir un adsorbant à la surface spécifique plus élevée ou augmenter la quantité de phase réceptrice) ;
- en diminuant le ratio entre surface exposée et masse d'adsorbant ;
- en modifiant les interactions mises en jeu entre les analytes et la phase réceptrice ;
- en utilisant le principe de la DGT pour les composés organiques, soit l'ajout d'un gel de diffusion en plus de la membrane.

L'ensemble de ces solutions a été étudié et est résumé dans deux publications, dont une acceptée. Le premier article (section 2) se focalise sur l'influence de la géométrie de l'échantillonneur ainsi que sur l'applicabilité du modèle DGT, et le deuxième article (section 3) s'attache à augmenter la capacité de rétention de la phase réceptrice, en comparant différents adsorbants (mixed mode anion exchange et PS-DVB à haute surface spécifique).

Dans les cas où l'on considère un modèle général de fonctionnement à deux compartiments (Huckins *et al.*, 1990), un travail particulier a été engagé pour vérifier

l'applicabilité de l'approche PRC afin de pouvoir accéder à des données quantitatives par la suite. Pratiquement, l'approche PRC consiste à corriger les constantes d'accumulation calibrées en laboratoire par le ratio des désorptions observées *in situ* et en laboratoire d'un composé absent de l'environnement (molécules deutérées habituellement). De ce fait, il est nécessaire que les cinétiques de désorption des PRC et les cinétiques d'accumulation des analytes cibles soient appariées. En d'autres termes, l'application de ce type d'approche requiert que les échanges entre le milieu et l'échantillonneur soient isotropes (symétrie des cinétiques d'accumulation et de désorption). Toutefois, la nature encore peu explicite des interactions mises en jeu dans le processus de sorption du POCIS met en doute les propriétés isotropes des échanges (phénomènes d'adsorption, soit des échanges liquide-solide anisotropes *a priori*). Ces questions alimentent par ailleurs un débat considérable dans la littérature à propos de l'applicabilité de l'approche PRC pour les échantillonneurs passifs « polaires » plus généralement (Shaw *et al.*, 2009a; Mazzella *et al.*, 2010; Harman *et al.*, 2011a; Camilleri *et al.*, 2012) ; et nécessitent encore d'être davantage renseignées avant de pouvoir utiliser ce type d'outils de manière quantitative au sens strict. Le modèle DGT permet quant à lui d'accéder directement à des données quantitatives moyennant le contrôle de la température du milieu et une agitation minimale de 2 cm.s^{-1} (Gimpel *et al.*, 2001).

2. PUBLICATION "OPTIMIZATION OF POLAR ORGANIC CHEMICAL INTEGRATIVE SAMPLER AND DIFFUSIVE GRADIENT IN THIN-FILM FOR THE SAMPLING OF ORGANIC ACIDS"

Vincent Fauvelle, Angel Belles, Aurélie Moreira, François Delmas, Nicolas Mazzella, Hélène Budzinski

En préparation

Abstract

This paper aims to optimize the quantitative passive sampling of acidic herbicides in water (e.g. 2,4-D, bentazon, metsulfuron, dicamba) by adapting existing devices. Among the various passive samplers, the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) allows the sampling of the most polar organic compounds (POCs) whereas the diffusive gradient in thin-film (DGT) technique focuses on the sampling of inorganic ions. Few studies have reported the benefits of replacing the original Oasis HLB POCIS's receiving phase by a mixed-mode ion exchange sorbent, but the quantitative behaviour of such a device is still questioning. Thus, the influence of the POCIS geometry (i.e. mass of sorbent and exposure surface area), and the adaptation of DGT with use of the Oasis HLB sorbent as receiving phase were investigated. Linear uptakes were obtained for our analytes by varying the ratio between the effective exposure surface area and the mass of sorbent with the POCIS configuration. The use of a diffusive gel (i.e. DGT technique) provided linear uptakes as well, and allowed in addition to achieve quantitative data without exposure correction.

Keywords: acidic herbicides, triketone, phenoxy acids, sulfonylurea, passive sampling, POCIS, DGT

1. Introduction

The first aquatic passive samplers were developed in the early 90s to accumulate priority contaminants such as metals and hydrophobic organic contaminants (Huckins *et al.*, 1993; Davison et Zhang, 1994; Zhang et Davison, 1995). The countless advantages of passive sampling over traditional spot sampling (e.g. drastic decrease of the limits of quantifications -LOQs-, more accurate picture of the contamination given by time-weighted average -TWA- concentrations, mimic of the bioaccumulation, ease of use, limited cost...) resulted in an increasing development of this technique over the past 20 years. Among these developments, many works dealt with the sampling of POCs (Kingston *et al.*, 2000; Alvarez *et al.*, 2004) to meet the issue of emerging contaminants (Daughton, 2004). Indeed these new pollutants, or rather the contaminants of growing concern, are mostly hydrophilic and water soluble (e.g. pesticides, pharmaceutical and personal care products -PPCPs-, and metabolites). Their rapid transfer to the water compartment is thus favoured (Fung et Ikesaki, 1991), and the contamination may vary strongly over the time. In the case of pesticides, the agrochemical industries tend to offer products with lower application rates (Beaudegnies *et al.*, 2009), which complicates their subsequent detection in the environment (lower LOQs are needed). Therefore, because of its integrative character together with its high concentration factor, polar passive sampling may facilitates one of the priority goals of the emerging pollutant research, which is to identify as early as possible potential toxicants.

Among the emerging contaminants, organic acids are broadly represented in various classes (PPCPs, pesticides, perfluoroalkyl compounds). Acidic herbicides, such as phenoxy acids, sulphonylurea and triketones are widely used for agricultural as well as urban uses because of their relative cheapness and their high efficiency even at low application rates (few $\text{g}\cdot\text{ha}^{-1}$). Moreover, chloroacetanilides metabolites are increasingly monitored in both surface and ground water, and are often quantified at higher concentrations than that of the parent compounds (Postle *et al.*, 2004; Hladik *et al.*, 2005; Roubex *et al.*, 2012). Despite the importance of these organic acids, their passive sampling is still poorly studied (Mazzella *et al.*, 2007; Harman *et al.*, 2011b; Li *et al.*, 2011). Therefore, this work is dealing with the optimization of existing devices for the sampling of acidic herbicides and acidic metabolites of chloroacetanilides.

Although POCIS allows the sampling of the most hydrophilic organic compounds (i.e. $0 < \log K_{ow} < 4$), organic acids generally reach a thermodynamic equilibrium after only few days of exposure (Mazzella *et al.*, 2007; Harman *et al.*, 2011b). Thus, to overcome the unsuitable sampling parameters of POCIS for very polar compounds, Li *et al.* (2011) and Kaserzon *et al.* (2012) proposed to replace the original Oasis HLB sorbent by a mixed mode anion exchange sorbent (strong and weak anion exchange respectively). Even if sampling rates (R_s) and maximum exposure times ($t_{1/2s}$) were dramatically enhanced, doubts persist about possible competition phenomena with other anions (mainly chloride, humic and fulvic acids, nitrates, phosphates) on Coulomb interaction sites (Bäuerlein *et al.*, 2012). In the same study, Kaserzon *et al.* (2012) modified the geometry of the sampler by both reducing the exposed area (16 versus 45.8 cm²) and increasing the mass of sorbent (600 versus 200 mg), which could theoretically increase $t_{1/2}$ parameter by a factor 8.6 for a given sorbent, and then providing an expected longer period for the kinetic uptake of polar analytes. Otherwise, Davison and Zhang initially imagined the DGT technique for the sampling of both organic and inorganic ions (1994). Therefore, for improving the passive sampling of anionic and highly polar herbicides, we chose to keep the original receiving phase of the POCIS and to focus on i) the influence of the POCIS mass of sorbent, ii) the influence of the POCIS exposure surface area and iii) the adaptation of DGT, with the use of a diffusive gel in addition to the polyethersulfone membrane; to achieve longer linear uptake of acidic herbicides. This paper focuses on the study of ten model compounds selected to represent the most commonly used chemical families in the class of anionic and polar pesticides (phenoxy acids, sulfonylureas, triketones, phenylureas, chloroacetanilides, diazinones, benzoic acids, and triazines), in order to define the selectivity of the each sampling tool.

2. Experimental

2.1. Chemicals

Formic acid, ammonium acetate and sodium chloride were purchased from Fluka. Methanol (MeOH), acetonitrile (ACN), ethyl acetate (EA) were obtained from Sharlau (HPLC grade). Ultra pure water (UPW, resistivity > 18 M Ω) was produced by a Synergy UV system from Millipore (Billerica, MA, USA). All HPLC eluents were filtered through a 0.45 μ m regenerated cellulose (Whatman GmbH, Versailles, France). Water samples were filtered

through a 0.7 μm glass fiber filters also provided by Whatman. Neutral and acidic analytical standards were purchased from Dr. Erhenstorfer GmbH (Augsburg, Germany): 2,4-D, acetochlor ethan sulfonic acid (acetochlor ESA, metabolite of acetochlor), acetochlor oxanilic acid (acetochlor OA, metabolite of acetochlor), atrazine, bentazon, desisopropylatrazine (DIA, metabolite of atrazine), dicamba, diuron, mesotrione, metsulfuron-methyl, atrazine-d5 bentazon-d6, desethyatrazine-d6, DIA-d5, dicamba-d3, diuron-d6, MCPA-d3, metsulfuron-d3, monuron-d6, nicosulfuron-d6, prometryn-d6, simazine-d5. Their purity is higher than 95.5 %. Monomolecular stock solutions were prepared in ACN ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) and stored at -18°C for six months. Working solutions ($1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$) of pesticides standards, internal standards and surrogates were also prepared in ACN and stored at -6°C for three months.

2.2. Analyses

Pesticide analyses were performed by liquid chromatography coupled with a tandem mass spectrometer *via* an electrospray ionisation interface (LC-ESI-MS², Dionex ultimate 3000, ABSciex API 2000). Reversed phase separation (RPLC) was chosen for neutral pesticides (Phenomenex Gemini-NX C₁₈ 3 μm , 110 Å, 100 mm x 2 mm protected by a SecurityGuard cartridge Gemini-NX C₁₈ 4 mm x 2.0 mm) (Lissalde *et al.*, 2011) whereas acidic herbicides were separated by hydrophilic interaction liquid chromatography HILIC (Macherey-Nagel zwitterionic Nucleodur HILIC 3 μm , 100 Å, 125 mm x 2 mm protected by a Nucleodur HILIC 3 μm , 100 Å, 8 mm x 3 mm, pre-column). HILIC separation is performed in isocratic conditions (ACN/ammonium acetate 20 mM 95:5 (v/v), $200 \mu\text{L min}^{-1}$, 25°C , 5 μL injection volume).

2.3. Solid phase extraction procedure for water samples

The studied analytes are hydrophilic ($-2 < \log K_{ow} < 4$) and some of them exhibit an acidic character ($\text{pK}_a < 4.5$). Neutral compounds were extracted using a solid phase extraction (SPE) method previously described by Lissalde *et al.* (2011). For acidic chemicals, 200 mL of water were sampled, fortified with surrogates to control *a posteriori* the extraction efficiency, filtered, set at pH 5 with formic acid 10 %, and extracted by SPE after conditioning the cartridge (Oasis HLB 150 mg, 30 μm particle size) with 3 mL of MeOH then

3 mL of UPW. The cartridge is then washed with 1.5 mL of UPW containing 30 % of MeOH, dried with a gentle nitrogen stream and eluted with 5 mL of MeOH. The collected extract is fortified with internal standards (MCPA-d3, metsulfuron-d3, bentazone-d6), evaporated to dryness under N₂ and reconstituted with 3000 µL of the initial HPLC gradient composition (i.e. ACN/UPW 95:5 (v/v)).

2.4. POCIS procedure

POCIS (Exposmeter, Sweden) consists of a sorbent enclosed between two 0.1 µm pore size polyethersulfone (PES) membranes (PALL corp.) locked with two stainless steel rings (45.8 cm² exposure windows) to prevent any losses. They have been assembled manually using 200, 400 or 600 mg (P-200, P-400, P-600) of Oasis HLB (Waters, 30 µm particle size) spiked in advance with two PRCs (Huckins *et al.*, 2002; Mazzella *et al.*, 2007) (DIA-d5, dicamba-d3, 4 µg g⁻¹) according to the method described by Lissalde *et al.* (2011). After exposure, the sorbent was transferred in a 6 cc polypropylene empty cartridge using 5 mL of UPW, and then dried with N₂. Elution was performed with 5 mL of MeOH, and then with 5 mL of MeOH/EA 50: 50 (v/v). The collected extract is then evaporated to dryness (N₂) and reconstituted with 1000 µL of ACN. Two 500 µL aliquots are collected, fortified with internal standards, evaporated to dryness and reconstituted with 500 µL of initial HPLC gradient composition for both RPLC and HILIC analysis described previously. Elution recoveries for 200, 400 and 600 mg of sorbent are very close to 100 % (86 to 119 %) for all compounds and are not significantly different for the three masses of sorbent (data not shown).

2.5. DGT procedure

Two different samplers were assembled using DGT structure. The first is working like a POCIS using DGT geometry (named µPOCIS), and the second is based on the DGT theory (named DGT-HLB). Solution DGT devices were supplied by DGT research (3.14 cm² exposure window, Lancaster UK). Concerning µPOCIS, a PES membrane (0.1 µm, 25 mm, Sartorius corp.) is placed at the bottom of the sleeve and held by a handmade silicone ring (2.5 mm square section, 25 mm O.D., 20 mm I.D.). Then 200 or 400 mg (µP-200, µP-400) of dried Oasis HLB previously spiked with PRCs (DIA-d5, dicamba-d3, see section 2.4) are added inside the silicone ring, and the device is finally closed with the piston. In this way, no losses

of sorbent were observed during exposures. As the sorbent is placed in a cavity of appropriate size, it occupies the entire space and maintains itself statically. For this reason, it has not been suspended in a diffusion gel. After exposure, the device is opened and the sorbent is transferred in empty 6 cc cartridges with 5 mL of EUP and then eluted in the same way as POCIS (see section 2.4). DGT-HLB is assembled in the same way as μ POCIS, with an additional diffusive gel (DGT-research, polyacrylamide hydrogel open pore, 0.78 mm thickness) inserted between the membrane and the sorbent.

2.6. Samplers calibration

The calibration system inspired by Camilleri *et al.* (2012) consisted of a 170 L tank. Stirring was carried by an immersed pump connected to a handmade polyvinyl chloride diffusion ramp which providing a flow velocity of 9-15 cm s^{-1} (POCIS calibration) and 5-8 cm s^{-1} (μ POCIS and DGT-HLB calibration), respectively. Flow velocities were determined with a Marsh-Mc Birney 2000 flowmeter. The water was initially contaminated, and then 25 % of the total volume was continuously renewed each day to prevent any variation in solute concentration using a syringe pump (KdScientific 200-CE, 50 mL syringe, 5.9 $\mu\text{L min}^{-1}$) for pesticide stock solution input (MeOH, 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$), and a peristaltic pump for drinking water input (Ismatec ISM827B, about 30 mL min^{-1}). Drinking water had the following characteristics: temperature 19-22°C, conductivity around 600 $\mu\text{S cm}^{-1}$, pH 7.6. Triplicates of each sampler type were removed after 2, 5, 10, 15 and 20 days for the first experiment (POCIS calibration) and after 3, 5, 8, 13, 20, 27, 35 days of exposure for the second experiment (μ POCIS and DGT calibration). The concentration of pesticides in water was measured every two days, and relative standard deviations (RSDs) were less than 13 % for the whole duration of both experiments and for all compounds. Concentrations in water were in the range 0.1-0.6 $\mu\text{g L}^{-1}$ depending on the analyte. Soiled water was decontaminated using activated carbon (more than 99 % adsorbed) before discharge to mains drainage. Non linear models were fitted with XL-STAT software (2010.5.8 version, Addinsoft).

3. Theory and modeling

Passive sampling is based on the difference of chemical potentials between the medium to be sampled and the receiving phase of the passive sampler. Aquatic sampling devices are

comparable to a standardized compartment introduced into the water medium. A two compartment model governed by two-way isotropic exchanges is generally considered (Huckins *et al.*, 1990). The analyte accumulation rate in the sampler (dC_s/dt) is governed by the accumulation constant (k_u), the concentration in the sampler (C_s), the desorption constant (k_e) and the water concentration (C_w):

$$\frac{dC_s}{dt} = k_u C_w - k_e C_s \text{ Eq. 1}$$

However, several studies (Xing *et al.*, 1996; Górecki *et al.*, 1999; Bäuerlein *et al.*, 2012) highlighted multiple interactions processes occurring between organic compounds and a solid substrate. In the case of using a hyper cross-linked sorbent like Oasis HLB as receiving phase, multiple interactions with i different types of sampling sites on the sorbent (e.g. lone-pair interaction or H-bonding with the N-Vinylpyrrolidone moieties, π - π interaction with the polystyrene-divinylbenzene matrix) may occur with highly polar analytes (Bäuerlein *et al.*, 2012). Additionally, fast adsorption on the sorbent surface may be observed during the early stage of the uptake processes, and then followed by a slower diffusion through the pores (Górecki *et al.*, 1999; Rafferty *et al.*, 2007). In this cases, a global kinetic relationship constituted with several parallel first-order kinetics (corresponding to the i compartments) can be formulated (Xing et Pignatello, 1997):

$$\frac{dC_s}{dt} = \sum_i \frac{dC_{s(i)}}{dt} = \sum_i k_{u(i)} C_w - k_{e(i)} C_{s(i)} \text{ Eq. 2}$$

And solved by:

$$CF = \frac{C_s}{C_w} = \sum_i K_{sw(i)} (1 - e^{-k_{e(i)} t}) \text{ Eq. 3}$$

CF is the concentration factor, and $K_{sw(i)}$ the ratio between $k_{u(i)}$ and $k_{e(i)}$. Otherwise, the integrative behaviour of the sampling device is constrained by the linearity limit (i.e. the half-time to the equilibrium $t_{1/2}$) of the faster interaction process that exhibits a significant K_{sw} value (e.g. interaction with the compartment No. 1). The associated $t_{1/2(i)}$ is defined as follows:

$$t_{1/2(1)} = \frac{\ln 2}{k_{e(1)}} = \frac{\ln 2 \times K_{sw(1)}}{\alpha_g \times G} \quad \text{Eq. 4}$$

Where α_g is the overall mass transfer coefficient, and G the geometry factor defined as the ratio between the effective exposure surface area of the receiving phase (A) and the mass of receiving phase (M). Thus, for exposures below $t_{1/2}$ (kinetic regime, pseudo-linear accumulation), Eq. 3 can be reduced to:

$$C_s = \frac{C_w R_s t}{M} \quad \text{Eq. 5}$$

Where R_s represents the volume of cleared water per time unit, commonly defined as the sampling rate.

Therefore, TWA water concentration can be deduced from the C_s , if R_s is previously determined under controlled conditions (i.e. water concentration). However, as R_s varies with the diffusive boundary layer (DBL) thickness (i.e. turbulence of the sampled media), two solutions are usually implemented: the performance and reference compound approach (PRC; Booij *et al.*, 1998; Huckins *et al.*, 2002) initially developed for the on Semipermeable Membrane Device (SPMD); and the addition of a diffusive gel layer of a known thickness between the medium to be sampled and the receiving phase (DGT; Davison et Zhang, 1994).

The PRC approach, suggested and adapted for polar passive sampler (Mazzella *et al.*, 2007; Mazzella *et al.*, 2010) from previous developments on SPMD, aims to correct the sampling rates determined in lab by the dissipation ratio of one or more surrogate (i.e. PRC) in lab and upon exposure. These surrogates are generally deuterated compounds added to the receiving phase prior to exposure, that have to be absent from the sampled media in order to have $C_{w(\text{PRC})} = 0$. Consequently, the first term of Eq. 1 becomes negligible, and then, in the case of multiple interacting sites, Eq. 2 has the following solution:

$$C_{s(\text{PRC},t)} = \sum_i C_{s(\text{PRC},t=0)(i)} \times e^{-k_{e(i)}t} \quad \text{Eq. 6}$$

The DGT technique was first introduced by Davison and Zhang (1994) for the quantitative measurement of labile metal species, but has never been well-tested for the sampling of organic acids. It is composed of a receiving phase separated from the sampled medium by a diffusive layer of a known thickness (Δg). Assuming a negligible diffusive boundary layer in comparison to Δg under non-static conditions (i.e. flow velocity $> 2 \text{ cm s}^{-1}$; Gimpel *et al.*, 2001), the analyte flux within the two-compartment system (F) is described by the first Fick's law:

$$F = \frac{D(C_w - C_{w'})}{\Delta g} \quad \text{Eq. 7}$$

Where D is the diffusion coefficient in the gel and C_w is the analyte concentration in the interstitial water of the receiving phase. As $C_{w'}$ is negligible during kinetic regime, Eq. 8 can be reduced to:

$$C_w = \frac{N \times \Delta g}{D \times t \times A} = \frac{N}{R_s \times t} \quad \text{Eq. 8}$$

N is the amount of analyte in the receiving phase. It should be noticed that this relationship is equivalent to the Eq. 5.

4. Results and discussion

4.1. Behaviour of highly polar and acidic compounds on the pharmaceutical Polar Organic Chemical Integrative Sampler

Regarding to the commercial version of the "pharmaceutical POCIS" (i.e. P-200), moderately hydrophilic compounds such as atrazine and diuron followed linear uptakes (Eq. 5, Table 8) and their R_s were in the range of those published in earlier studies (Alvarez, 2007; Mazzella *et al.*, 2007; Martínez Bueno *et al.*, 2009; Lissalde *et al.*, 2011; Morin *et al.*, 2012a). Acidic compounds (e.g. 2,4-D, bentazon, metsulfuron) as well as DIA exhibited curvilinear uptakes in our study, also in agreement with the literature (Mazzella *et al.*, 2007; Lissalde *et al.*, 2011). However, when applying the conventional monophasic model (i.e. Eq. 3 with $i=1$, Figure 44b) to the non-linear uptakes, the experimental sampling times were not faithfully modelled, while an earlier study showed a better fitting (Mazzella *et al.*, 2007). Due to the

lack of sampling times during the first week, previous studies (Mazzella *et al.*, 2007; Lissalde *et al.*, 2011) may have partially observed the initial faster uptake, and this phenomenon was interpreted as a burst phase due to an increased flux of water crossing the membrane in an attempt to solvate or wet the polymer. In fact, the addition of a sampling time at 2 days in our laboratory calibration highlighted a likely biphasic phenomenon occurring for extremely polar compounds (i.e. $\log K_{ow} < 1$) with the polymeric sorbent Oasis HLB as receiving phase. Indeed, uptakes seemed to be composed of two interaction phenomena which could correspond to a fast initial accumulation at the surface and in the macropores of the polymer, followed by a slower accumulation in the innermost interaction sites (mesopores, micropores; Górecki *et al.*, 1999; Rafferty *et al.*, 2007). Furthermore, the presence of two types of interaction sites on HLB (both hydrophilic and hydrophobic moieties) may also explain these biphasic phenomena, providing two potential adsorption processes and then two equilibria (Bäuerlein *et al.*, 2012). Thus, a dual-mode sorption model (Eq. 3 with $i=2$; Xing *et al.*, 1996; Xing et Pignatello, 1997) can be used to describe the overall accumulation, which consists of two parallel and additive exponential regressions corresponding to both non-linear uptake phenomena. However, since the second equilibrium was not reached at the end of the experiment, an exponential combined with linear model was fitted to experimental data using XL-STAT software, and better R^2 (Figure 44a) together with smaller dispersion (Annexe 14, Figure 53) were obtained. Thus, this model provided K_{sw} and k_e values for the first faster kinetic ($K_{sw(1)}$ and $k_{e(1)}$, Table 8), and only the uptake parameter ($k_{u(2)}$, Table 8) for the second slower kinetic, since $t_{1/2(2)}$ did not appear to be exceeded after a 20 days exposure in our calibration conditions. Although the time scale on which phenomena occur rather suggests that biphasic behaviour is due to distinct adsorption at the surface and inside the polymer (Górecki *et al.*, 1999), we do not have enough evidence to interpret such a mechanism in more details.

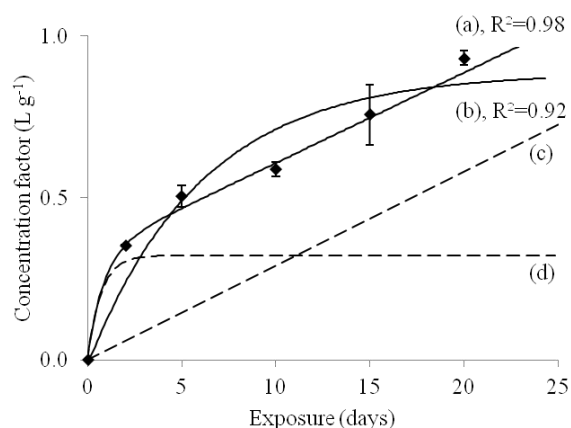


Figure 44. Monophasic (b) and biphasic (a) modeling of 2,4-D behaviour on conventional POCIS. Biphasic model composed of linear (c) and exponential (d) regressions ($n=3$, bars=standard deviation).

The results observed on the conventional pharmaceutical POCIS ($k_{e(1)} > 0.66 \text{ d}^{-1}$, i.e. $t_{1/2(1)} < 1 \text{ d}$, Eq. 4) confirmed the inadequacy of this tool for the sampling of organic compounds having a $\log K_{ow}$ lower than 1, and highlighted the likely complex behaviour of these analytes with the Oasis HLB sorbent. Otherwise, Eq. 4 showed that $t_{1/2(1)}$ parameter for the initial uptake can be enhanced by increasing $K_{sw(1)}$ (e.g. replacement of the receiving phase), decreasing G parameter (i.e. maintaining or decreasing A while increasing M), or decreasing α_g (modifying the diffusion layer). However, the benefits of replacing the Oasis HLB receiving phase seemed to be limited. Indeed, the comparison between “pesticide” and “pharmaceutical” POCIS provided by Fedorova *et al.* (2012) was performed for hydrophobic organic acids and showed little advantages; and the use of mixed mode anion exchange receiving phase (Li *et al.*, 2011; Kaserzon *et al.*, 2012) may involve competition phenomena. Thus, this paper only deals with the modification of G and α_g parameters.

Table 8. Accumulation parameters on POCISs containing 200, 400 and 600 mg of sorbent (P-200, P-400 and P-600). Standard deviations between brackets

	k_u ($L g^{-1} d^{-1}$)	R_s ($mL d^{-1}$)	$K_{sw(1)}$ ($L g^{-1}$)	$k_{e(1)}$ (d^{-1})	$k_{u(2)}$ ($L g^{-1} d^{-1}$)
Herbicides	P-200, P-400, P-600				
2,4-D	a	a	0.3 (10), 0.3 (12), 0.2 (15)	1.15 (48), 0.70 (33), 0.60 (38)	0.03 (8), 0.02 (12), 0.02 (12)
Acetochlor ESA	0.8 (5), 0.6 (2), 0.5 (2)	157 (5), 224 (2), 287 (2)	b	b	b
Acetochlor OA	0.3 (5), 0.3 (9), 0.2 (4)	69 (5), 137 (9), 117 (4)	b	b	b
Atrazine	1.4 (4), 1.1 (3), 0.8 (4)	286 (4), 400 (3), 466 (4)	b	b	b
Bentazon	a	a	2.7 (9), 2.8 (10), 2.4 (17)	0.66 (25), 0.50 (23), 0.39 (31)	0.13 (13), 0.09 (20), 0.08 (29)
DIA	a	a	3.4 (8), 3.3 (11), 2.7 (14)	1.81 (96), 0.60 (28), 0.44 (27)	0.16 (13), 0.12 (20), 0.09 (26)
Dicamba	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Diuron	1.4 (3), 1.0 (3), 0.7 (4)	284 (3), 392 (3), 446 (4)	b	b	b
Mesotrione	a	a	1.0 (7), 0.9 (14), 0.8 (13)	1.69 (59), 0.92 (51), 0.6 (31)	0.04 (13), 0.03 (29), 0.02 (36)
Metsulfuron	a	a	2.3 (21), 1.9 (24), 3.2 (26)	1.00 (83), 0.57 (57), 0.24 (34)	0.29 (12), 0.28 (11), 0.11 (39)

a : Curvilinear uptake after 20 days of the experiment and application of a non-linear regression ($R^2 > 0.92$).

b: Linear uptake for 20 days of the experiment ($R^2 > 0.91$) and then, the non-linear regression was not applicable.

4.2. Influence of the mass of sorbent on POCIS uptakes and releases

A preliminary laboratory experiment consisted to evaluate the evolution of the effective POCIS exposure surface area (i.e. membrane area in contact with the receiving phase) as a function of the mass of sorbent. Thus, triplicates of POCIS containing from 100 to 1000 mg of Oasis HLB were immersed for 24 hours to simulate the settling conditions upon standing exposure. Then we visually defined the portion of membrane in direct contact with the receiving phase, and we determined its area by weighing, knowing the basis weight of the PES material. The evolution of A with M is illustrated in Annexe 14 (Figure 54, Figure 55). As the internal cavity of the POCIS has not a constant thickness (i.e. spheroid with radii equals to 27 mm on two dimensions and ≈ 3 mm on the third dimension), the surface of membrane in contact with the sorbent did not vary linearly with M, and G parameter (i.e. A on M ratio) could be reduced by increasing the mass of sorbent.

Therefore, a first laboratory experiment was conducted to compare uptakes of both acidic and neutral pesticides during 20 days in POCIS containing 200, 400 and 600 mg of Oasis HLB (i.e. P-200, P-400 and P-600). Kinetic parameters of the 10 selected compounds for each type of POCIS are listed in Table 8. Although P-600 showed slower accumulation and desorption than P-200, its $k_{e(1)}$ parameters were higher than $0.24 d^{-1}$ for highly polar compounds (i.e. $t_{1/2(1)} < 3$ days, Eq. 4, Table 8). However, due to the lack of data during the first day, at the early stage of the uptake process, the estimated kinetic parameters ($K_{sw(1)}$,

$k_{e(1)}$, $k_{u(2)}$) suffer from relatively high RSDs, especially for $k_{e(1)}$. Concerning neutral compounds (except for DIA), a substantial decrease in k_u was observed whereas R_s increased by a factor two with the increase of M . Because R_s only depends on the exposure surface area, this last result confirmed that the effective area to be considered in the POCIS contaminant transfer is the membrane area in direct contact with the receiving phase.

4.3. Influence of the exposed area on kinetic parameters

Despite a slower desorption observed on P-600 (lower $k_{e(1)}$), increasing the POCIS mass of sorbent did not allow an adequate sampling of acidic compounds. One solution could be to further increase the M , but cost constraints would be clearly limiting. Consequently, G was reduced by decreasing drastically the exposure surface area by using a DGT housing (3.14 cm² exposure window), without the diffusing gel (named μ POCIS), while keeping 200 and 400 mg of Oasis HLB (named μ P-200 and μ P-400). In this way, G parameter is reduced dramatically (Annexe 14, Figure 54, from 55.9 cm² g⁻¹ for P-200, to 7.85 cm² g⁻¹ for μ P-400) and the accumulation of the most hydrophilic compounds is expected to be linear during several weeks depending on the analyte. Indeed, uptakes were linear for the whole duration of the experiment (35 days, R^2 higher than 0.92, Table 9) for both μ P-200 and μ P-400 and for all compounds except from dicamba, which was not detected in the samplers because of its high hydrophilicity presumably implying a very low affinity with the HLB material at neutral pH (i.e. very low K_{sw}). These results were standing beyond our estimates since experimental $k_{e(1)}$ were up to six times lower than the expected values based on $k_{e(1)}$ determined on POCIS (e.g. DIA on μ P-200, Eq. 4, Table 8). The use of a different membrane (Sartorius versus PALL, modification of the microscopic structure, membrane thickness and pore volume), the high uncertainty associated to the POCIS $k_{e(1)}$ and the differences in geometry between both POCIS and DGT structure (i.e. thickness of the receiving phase) could explain the linear accumulations observed over 35 days for all compounds, even the most hydrophilic and water-soluble. Obviously, the drastic reduction of A , which provides the linear accumulation of acidic compounds, also involved a substantial decrease in R_s which can be detrimental to the sampling quality in terms of LOQs (decrease of the concentration factor). Moreover, it is interesting to note that μ POCIS R_s s are equivalent for both 200 and 400 versions (Table 9), which verify the independence of R_s with the mass of sorbent.

Table 9. Sampling rates (mL d^{-1}) and standard deviations between brackets for μPOCIS and DGT-HLB containing 200 and 400 mg of sorbent

Herbicides	$\mu\text{P-200}$	$\mu\text{P-400}$	DGT 200	DGT 400
2,4-D	3.5 (2)	4.2 (2)	1.7 (4)	2.2 (4)
Acetochlor ESA	11 (3)	12 (3)	3.0 (4)	3.8 (3)
Acetochlor OA	7.5 (3)	8.5 (3)	4.5 (2)	5.0 (2)
Atrazine	39 (4)	47 (2)	N.D.	N.D.
Bentazon	7.8 (3)	8.5 (2)	4.0 (3)	5.1 (2)
DIA	18 (4)	20 (3)	8.4 (3)	8.7 (2)
Dicamba	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Diuron	38 (4)	46 (3)	N.D.	N.D.
Mesotrione	2.2 (4)	2.2 (3)	1.2 (3)	1.3 (3)
Metsulfuron	6.7 (2)	7.7 (2)	2.3 (2)	2.4 (2)

4.4. Applicability of the performance and reference compound approach

As the analytes uptakes in POCIS and μPOCIS depend on exposure parameters (mainly flow velocity), it is necessary to assess the *in situ* accumulation behaviour of contaminants in order to achieve quantitative data. Such a goal can be met by calibrating the samplers *in situ* (Harman *et al.*, 2011b), or by adapting the PRC approach (Mazzella *et al.*, 2007). As the first method is disproportionately expensive and time consuming, a growing number of studies explore the applicability of the PRC approach for polar passive samplers (Mazzella *et al.*, 2007; Shaw *et al.*, 2009a; Mazzella *et al.*, 2010; Lissalde *et al.*, 2011; Camilleri *et al.*, 2012).

The first constraint is to select compounds with a significant desorption for ensuring an acceptable R_s correction. DIA-d5 is generally used as PRC for the conventional POCIS (Mazzella *et al.*, 2007), but its desorption from μPOCIS may not be sufficient, and compounds with lower $\log K_{ow}$ have to be evaluated as potential PRCs. Consequently, we examined the desorption of both DIA-d5 and dicamba-d3 from POCIS and μPOCIS (Figure 45, Figure 46) together with the analyte accumulation study. As anticipated, dicamba-d3 desorbed rapidly from the 3 POCIS configurations (complete desorption after few days only, data not shown), while DIA-d5 showed acceptable elimination (i.e. between 20 and 80 %, Figure 45). Concerning μPOCIS , DIA-d5 release was not significant, even after 35 days, whereas dicamba-d3 exhibited a substantial desorption.

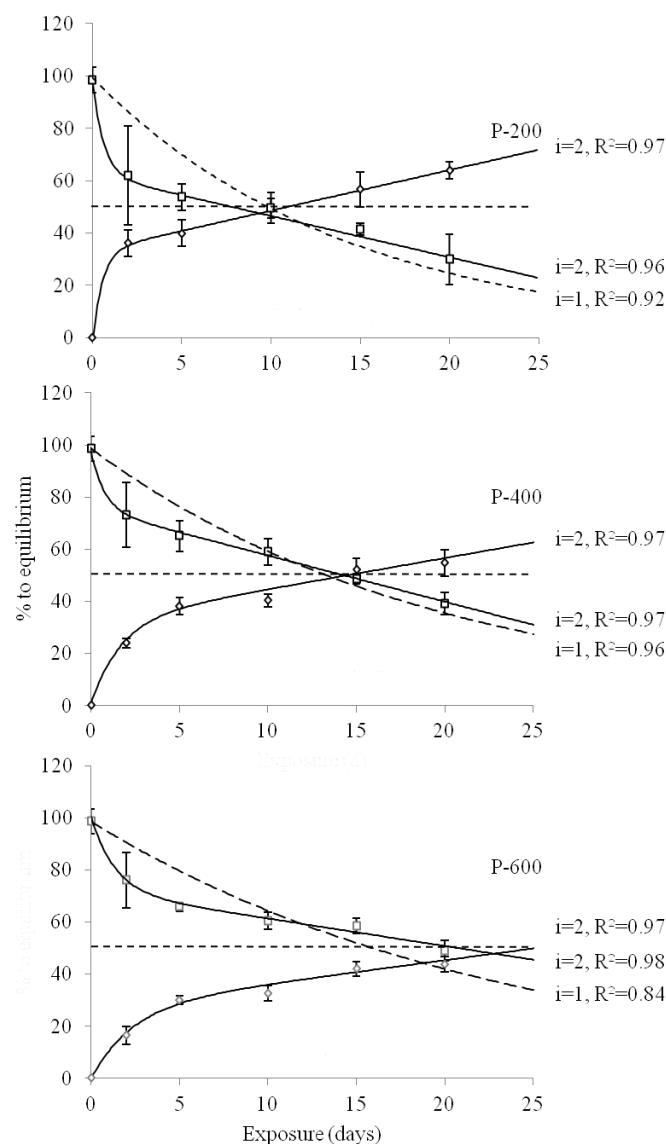


Figure 45. Uptakes and releases of DIA and DIA-d5 for POCIS containing 200, 400 and 600 mg of sorbent (P-200, P-400 and P-600). Monophasic (i=1) and biphasic (i=2) desorption modelling (n=3, bars=standard deviation).

Among the unsolved issues regarding the applicability of the PRC approach for polar passive samplers, the two-way isotropic behaviour of analytes remains the most critical. Although exchanges are supposed to be anisotropic with a sorbent as receiving phase, the confrontation of uptake and release of DIA (Figure 45) suggested global isotropic exchanges since both uptake and release were governed by the same biphasic behaviour and crossed each other close to 50 % of equilibrium (symmetrical uptake and release behaviour), whatever the sorbent amount to be considered. However, the likely biphasic character of the PRC desorption (Figure 45, Figure 46) proscribes, from a theoretical point of view, the one point R_s correction performed during field applications. Nevertheless, the comparison

of monophasic (Eq. 6, $i=1$) and biphasic (Eq. 6, $i=2$) regressions for our data (Figure 45, Figure 46) indicated that the conventional monophasic model is well suited to the experimental data over 10 days of exposure, whether for DIA-d5 (POCIS) or dicamba-d3 (μ POCIS). In fact, $C_{s(\text{PRC},t=0)(1)}$ (i.e. the initial proportion of PRC associated to the first and fastest dissipation) did not exceed 30 % of the total amount of spiked PRC in each case (data not shown). Thus, for sufficiently long exposures (i.e. several weeks), the first interaction process could be considered as negligible, and the respective use of DIA-d5 and dicamba-d3 as PRCs for POCIS and μ POCIS may remain valid for long exposure.

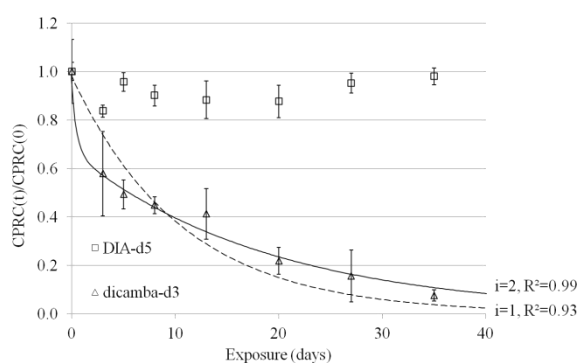


Figure 46. Releases of DIA-d5 and dicamba-d3 from μ P-200. Error bars show the standard deviation ($n=3$). Comparison between monophasic ($i=1$) and biphasic ($i=2$) modelling.

4.5. Use of DGT for the sampling of organic acids

DGT was developed in the 90's for the quantitative *in situ* sampling of metal ions (Davison et Zhang, 1994; Zhang et Davison, 1995). It is based on the diffusion of the species through an ion-permeable gel layer of a known thickness. Although Davison and Zhang imagined this technique for both inorganic and organic diffusing species (i.e. ionic species; Davison et Zhang, 1994), no research have been done, unless omission, on the passive sampling of organic anions using DGT technique. For our purpose, DGT presents the major advantage to be less dependent of the hydrodynamics because the analyte flux (F) is mainly controlled by the diffusion layer. Therefore PRC approach, which is the subject of considerable debate concerning its applicability for polar passive samplers such as POCIS (Harman *et al.*, 2011a), is no longer needed to achieve quantitative data, although other constraints have been highlighted (e.g. temperature and fouling dependency; Zhang et Davison, 1995; Uher *et al.*, 2012).

Thus, DGT have been adapted for the sampling of organic acids by replacing the original receiving phase (e.g. Chelex, Fe-oxide) with the Oasis HLB sorbent. As for μ POCIS, the calibration results (Table 9) showed linear accumulations over 35 days for all compounds except from neutral moderately hydrophilic compounds (i.e. atrazine, diuron), which were not detected in the samplers. As expected (Davison et Zhang, 1994), only ionic and very hydrophilic compounds (e.g. mesotrione and DIA respectively) had the ability to cross the diffusive gel without apparent lag phase. Neutral compounds (atrazine and diuron) were not sampled at all, even after 35 days of exposure, which means that the polyacrylamide diffusion layer constitute a barrier for the sampling of such compounds. R_s s were about twice lower than those observed on μ POCIS, ranging from 1.2 to 8.7 mL d⁻¹, meaning that LOQs would be about fifty times lower than that of conventional POCIS. However, precisely because of high R_s s, POCIS extracts are subject to matrix effects (Taylor, 2005) since non target organic compounds (e.g. humic and fulvic acids) are co-sampled in natural environments and may interfere during the HPLC-ESI-MS² analysis (method of choice for polar organic compounds analysis). To overcome these matrix effects, several solutions are commonly used: standard additions, internal standard calibration, or extract dilution. By analysing the various possibilities, Lissalde *et al.* (2011) recommended the latest (10-fold dilution) to eliminate matrix effects from real field POCIS extracts analyses. This means that passive samplers LOQs are influenced by i) their specific R_s and ii) the sample purity depending on the exposure time, the water quality, the A, the hydrodynamics, etc. In other words, the extract reconstitution volume (see section 2.3) has to be adapted to the sample purity in order to optimize LOQs. In this way, low R_s do not necessarily imply low LOQs, and DGT could become the simplest and more reliable technique to achieve quantitative TWA concentrations for extremely polar and acidic pesticides quantification. Obviously, as performed for "inorganic DGT", further work is needed on this device to evaluate the influence of temperature, physicochemical water characteristics (pH, dissolved organic matter, conductivity), fouling etc, and to validate the device *in situ*. Otherwise, DGT R_s and its application range in terms of compound polarity could be enhanced by changing the nature of the diffusive layer, by modifying the receiving phase (e.g. mixed mode anion exchange), and optimizing the exposure surface area.

Acknowledgment

The authors would like to thank the Region Aquitaine, FEDER, and the ANR RIPOST for financial support and Brigitte Delest, Alexis Beven for their technical support.

3. PUBLICATION "USE OF MIXED MODE ION EXCHANGE SORBENT FOR THE PASSIVE SAMPLING OF ORGANIC ACIDS BY POLAR ORGANIC CHEMICAL INTEGRATIVE SAMPLER"

Vincent Fauvelle, Nicolas Mazzella, François Delmas, Karine Madarassou, Mélissa Eon, Hélène Budzinski

Environ. Sci. Technol., 2012, 46, 13

Abstract

Acidic herbicides are increasingly monitored in freshwater, since their high solubility favors their rapid transfer to the water phase. Therefore, contaminant levels in the water can vary rapidly and passive sampling would be preferred to spot sampling to integrate all pollution events over a given exposure time. In this work, we propose to compare the conventional pharmaceutical polar organic chemical integrative sampler (POCIS) with modified POCISs containing two different receiving phases: a standard polystyrene divinylbenzene polymer with a higher specific surface area (Chromabond HR-X) and a mixed-mode anion exchange sorbent providing additional strong anion exchange interaction sites (Oasis MAX). Due to its hydrophobic character, HRX had little interaction with water (no sampling of acidic herbicides); whereas MAX provided acceptable sampling parameters (longer kinetic regime together with higher sampling rates). Additional experiments with POCIS-MAX showed no influence of nitrates on analyte uptakes, and linear isotherms reaching $10 \mu\text{g L}^{-1}$, supporting the applicability of this device for the sampling of organic acids in continental water. The performance and reference compound (PRC) approach would be then applicable for POCIS-MAX if no competition is observed with other anions, especially organic acids (e.g. humic acids).

Keywords: acidic herbicides, triketone, phenoxy acid, sulfonyleurea, passive sampling, POCIS, freshwater

1. Introduction

Recent long-term environmental monitoring studies have demonstrated a drastic decrease in concentrations of persistent organic pollutants over the last decade (Rawn *et al.*, 2001; Aguilar et Borrell, 2005; Gioia *et al.*, 2005). Indeed, a growing societal desire has led to a transformation in pesticide production; providing active substances which are less persistent and accumulative. The emergence of these new pesticides, highly effective even at low concentrations, has resulted in significantly reduced field applications. While they are less likely to be bioaccumulated, their high solubility facilitates their transfer from soil to aquatic compartments, and particularly to continental water (surface and ground waters ; Fung et Ikesaki, 1991). In this context, acidic herbicides (chemical structure available in annexe 15, Figures 56 and 57) receive particular attention, and are classified as emerging pollutants in monitoring programs. However detection by conventional spot sampling may be inaccurate because of the fugacity of the contamination and the very low concentrations in water requiring low limits of quantification (LOQs). Recently, a lot of work dealing with passive sampling has been done, and it is emerging as the best alternative to spot sampling since it enables an integration of pollution events occurring during a period of time by an *in situ* pre-concentration of the contaminants (Morin *et al.*, 2012a).

Despite the importance of organic acids, little research has so far been undertaken to develop a specific sampler for this class of chemicals (Mazzella *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2011; Bäuerlein *et al.*, 2012; Fedorova *et al.*, 2012; Kaserzon *et al.*, 2012). Among the existing devices, the polar organic chemical integrative sampler (POCIS; Alvarez *et al.*, 2000; Alvarez *et al.*, 2004; Morin *et al.*, 2012a) allows sampling of the most hydrophilic compounds ($0 < \log K_{ow} < 4$; Alvarez *et al.*, 2004; Vrana *et al.*, 2005; Mazzella *et al.*, 2007). However Mazzella *et al.* (2007) showed that acidic chemicals reach a thermodynamic equilibrium rapidly (after only a few days) and have a weak affinity for the receiving phase. Indeed, POCIS interacts with the analytes by van der Waals interactions, which are less suitable for acidic compounds because their high solubility causes a thermodynamically less favorable sorption than for neutral compounds (Bäuerlein *et al.*, 2012). Thus, application of POCIS for anionic compounds requires modifying its characteristics to achieve more satisfying kinetic and thermodynamic parameters.

We aimed to satisfy these requirements by comparing two commercially available sorbents, HRX and MAX, to the conventional HLB receiving phase. HRX exhibits a higher specific surface area than MAX. However, MAX offers van der Waals and lone-pair interactions like HLB, and additional Coulomb interactions sites. However, as the interactions with the sorbents are expected to be anisotropic (adsorption subject to competition phenomena; Górecki *et al.*, 1999), we can ask if the sampling parameters are influenced by the water composition (mainly the concentration levels of organic and inorganic anions) and if the use of PRCs is possible to achieve nearly quantitative data (Booij *et al.*, 1998; Huckins *et al.*, 2002; Mazzella *et al.*, 2007).

2. Experimental

2.1. Chemicals

Formic acid, ammonium acetate and sodium chloride were purchased from Fluka (Sigma-Aldrich, Schnelldorf, Germany). Methanol (MeOH), acetonitrile (AcCN), ethyl acetate (EtAC), were obtained from Sharlau (HPLC grade, AtlanticLabo, Bruges, France). Ultra pure water (UPW, resistivity > 18 MΩ) was produced with a Synergy UV system from Millipore (Billerica, MA, USA). All eluents were filtered through 0.45 μm regenerated cellulose (Whatman GmbH, Illkirch, France). Water samples were filtered through 0.7 μm glass fiber filters (GF/F) also provided by Whatman. Neutral and acidic analytical standards were purchased from Dr. Erhenstorfer GmbH (Augsburg, Germany): 2,4-D, acetochlor, acetochlor ethan sulfonic acid (acetochlor ESA, metabolite of acetochlor), acetochlor oxanilic acid (acetochlor OA, metabolite of acetochlor), alachlor, atrazine, azoxystrobin, bentazon, carbendazim, chlorfenvinphos, chlorsulfuron, chlortoluron, desethylatrazine (DEA, metabolite of atrazine), desethylterbuthylazine (DET, metabolite of terbuthylazine), desisopropylatrazine (DIA, metabolite of atrazine), dicamba, dichlorprop, diclofop, dimetomorph, diuron, fenoprop, hexazinon, iodosulfuron, ioxynil, 1-(4-isopropylphenyl)-3-methyl urea (IPPMU, metabolite of isoproturon), 1-(4-isopropyl phenyl) urea (IPPU, metabolite of isoproturon), irgarol, isoproturon, linuron, MCPA, mecoprop, mesotrione, metazachlor, methomyl, metolachlor, metolachlor ESA (metabolite of metolachlor), metolachlor OA (metabolite of metolachlor), metoxuron, metsulfuron-methyl, nicosulfuron, pyrimicarb, simazine, sulcotrione, terbuthylazine, thiodicarb, atrazine-d5, bentazon-d6, DEA-

d6, DIA-d5, dicamba-d3, diuron-D6, MCPA-d3, methomyl-d3, métolachlore-d6, metsulfuron-d3, monuron-d6, prometryn-d6, pyrimicarb-d6, simazine-d5. For all, the purity was higher than 95.5 %. Monomolecular stock solutions were prepared in AcCN ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) and stored at -18°C for 6 months. Working solutions ($1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$) of pesticides standards, internal standards and surrogates were also prepared in AcCN and stored at -6°C for 3 months.

2.2. Solid phase extraction procedure for water samples

The studied analytes are hydrophilic ($4 < \log K_{ow} < -2$) and some of them exhibit an acidic character ($\text{pK}_a < 4.5$) (Table 1). Because of their different chromatographic behaviour, neutral and acidic pesticides were extracted and analysed separately. Neutral compounds were analyzed using an off line SPE-RPLC-ESI-MS² (solid phase extraction-reversed phase liquid chromatography-electrospray ionisation interface-tandem mass spectrometer) method described elsewhere (Lissalde *et al.*, 2011). For acidic chemicals, 200 mL of water were sampled, fortified with surrogates (dicamba-d3, 100 μL of working solution) to evaluate the extraction efficiency, filtered with GF/F, adjust at pH 5 with 10 % formic acid, and extracted by SPE after conditioning the cartridge (Oasis HLB 150 mg, 30 μm particle size; Waters, Guyancourt, France) with 3 mL of MeOH then 3 mL of UPW. After sample loading (10 mL min^{-1}), the cartridge was washed with 1.5 mL of UPW containing 30 % of MeOH, dried with nitrogen, and eluted with 5 mL of MeOH. The collected extract was fortified with internal standards (60 μL of working solution), evaporated to dryness under nitrogen flow, reconstituted with 3000 μL of AcCN/UPW 95:5 (v/v) and analyzed by HILIC-ESI-MS² (see Apparatus section).

A breakthrough volume experiment was done with mineral water (i.e. pH 7, 360 mg L^{-1} carbonates -8262 μeq -, 12.6 mg L^{-1} sulphates -367 μeq -, 6.8 mg L^{-1} chlorides -272 μeq -) for acidic compounds on Oasis HLB. After a conditioning step (3 mL of MeOH followed by 3 mL of UPW), 1400 mL of filtered and fortified mineral water (uncontaminated reference water) was percolated through 200 mg of each sorbent ($n=3$). The percolate was then collected in 28 successive fractions of 50 mL and directly analysed by HPLC-ESI-MS² (see Apparatus section).

2.3. POCIS procedure

POCIS consists of a sorbent enclosed between two polyethersulfone membranes (0.1 μm , PALL corp, Holtzheim, France) locked with two stainless steel rings. POCIS-HLB, POCIS-MAX and POCIS-HRX were assembled manually using Oasis HLB (30 μm particle size, 810 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$, divinylbenzene N-vinyl-pyrrolidone, i.e. DVB-NVP, Waters, chemical structure available in Annexe 15, Figure 58), Oasis MAX (30 μm particle size, 810 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$, DVB-NVP with additional quaternary ammonium moieties 0.25 meq g^{-1} , Waters, chemical structure available in Annexe 15, Figure 58) and Chromabond HR-X (85 μm particle size, 1100 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$, polystyrene divinylbenzene, i.e. PS-DVB, Macherey-Nagel, Hoerd, France). Each sorbent was spiked in advance with two PRCs (DIA-d5, dicamba-d3, 4 $\mu\text{g} \text{g}^{-1}$; Huckins *et al.*, 2002; Mazzella *et al.*, 2007) according to the method described by Lissalde *et al.* (2011). After exposure, the sorbent was transferred to a 3 cc polypropylene cartridge using 40 mL of UPW, and then dried with a nitrogen. Elution was performed with 5 mL of MeOH then 5 mL of MeOH/EA 50: 50 (v/v) for POCIS-HLB and POCIS-HRX, and 5 mL of MeOH/EA 50: 50 (v/v) followed by 5 mL of MeOH/HCOOH 90:10 (v/v, pH=1.15) for POCIS-MAX in order to avoid any Coulomb interactions. The collected extracts were evaporated to dryness under nitrogen flow and reconstituted with 1000 μL of AcCN. Two 500 μL aliquots were then fortified with internal standards (for both C18 and HILIC analyses, see Apparatus section), evaporated to dryness under nitrogen flow, and reconstituted with 500 μL of each initial HPLC mobile phase composition.

2.4. POCIS calibration and isotherm study

The calibrating systems consisted of static 80 L tanks filled with either drinking or river water (system shown schematically in Annexe 15, Figure 59). Mixing was performed with a diffusion system (polyvinyl chloride diffusion ramp connected to an immersed pump) which provided a 5-8 cm s^{-1} flow velocity. Triplicates of samplers were removed after 2, 5, 11 and 21 days of exposure (32 days for the isotherm study, see Adsorption Isotherms section). During the calibration, pesticide concentrations in water were measured every two days and ranged from 0.8 to 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ depending on the analyte with RSDs lower than 40 % for the duration of the experiment. Four independent tanks were spiked with all analytes at 0.1,

0.5, 2 and 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ for the isotherm study. The water temperature was in the range of 19-23 °C. The waters were contaminated again after 10 days of exposure for compounds showing losses higher than 30% after a 10 days exposure (carbendazim, thiodocarb, irgarol). Calibrations were set up using drinking water (pH 7.6, 270 $\mu\text{S cm}^{-1}$, suspended matter < 1 mg L^{-1} , 0.52 mg L^{-1} dissolved organic carbon, 0.51 mg L^{-1} total dissolved organic carbon, 29.9 mg L^{-1} Cl^- , 0.041 mg L^{-1} PO_4^{2-} , $\text{NO}_3^- < 0.3 \text{ mg L}^{-1}$) or river water fortified with 50 mg L^{-1} of nitrate (pH 7.8, 210 $\mu\text{S cm}^{-1}$, suspended matter < 1 mg L^{-1} , 0.913 mg L^{-1} dissolved organic carbon, 0.925 mg L^{-1} total organic carbon, 10.9 mg L^{-1} Cl^- , 0.046 mg L^{-1} PO_4^{2-} , 52.7 mg L^{-1} NO_3^-) in order to evaluate the influence of inorganic anions under real environmental conditions. For the data analysis, non linear regression parameters were optimized using XL-STAT software (Addinsoft, Paris, France).

2.5. Apparatus

Pesticide analyses were performed by HPLC-ESI-MS² (Dionex ultimate 3000, ABSciex API 2000). Reversed phase separation was chosen for neutral pesticides (Phenomenex Gemini-NX C₁₈ 3 μm , 110 Å, 100 mm x 2 mm protected by a SecurityGuard cartridge Gemini-NX C₁₈ 4 mm x 2.0 mm) (Lissalde *et al.*, 2011) whereas acidic herbicides were separated by hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC, Macherey-Nagel zwitterionic Nucleodur HILIC 3 μm , 100 Å, 125 mm x 2 mm protected by a Nucleodur HILIC 3 μm , 100 Å, 8 mm x 3 mm, pre-column). HILIC separation was performed in isocratic conditions (ACN/ammonium acetate 20 mM 95:5 (v/v), 200 $\mu\text{L min}^{-1}$, 25°C, 5 μL injection volume). The mass acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM), in negative or positive mode for acidic and neutral compounds, respectively. Mass parameters are available elsewhere for neutral compounds (Lissalde *et al.*, 2011), and in Annexe 15, Table 14 for acidic compounds. Internal standard quantification was performed using a 6-points calibration (from 1 to 50 ng mL^{-1}) for both analytical methods.

Dissolved and total organic carbon were analysed with an O-I-Analytical 1010 analyser coupled with an O-I-Analytical 1051 autosampler. Chlorides was analysed using Metrohm 702 SM Titrino, phosphates were measured with a Perkin-Elmer Lambda 2 UV/VIS spectrophotometer, and nitrates were analysed with an Alliance Instruments evolution 2 autoanalyser.

3. Theory and modelling

Since the early 1990s, several aquatic passive samplers have been developed for both organic (Huckins *et al.*, 1990; Kingston *et al.*, 2000; Petty *et al.*, 2000; Müller *et al.*, 2001; Alvarez *et al.*, 2004; Petty *et al.*, 2004; Rusina *et al.*, 2007) and inorganic contaminants (Zhang *et al.*, 1995; Bennett *et al.*, 2010; Panther *et al.*, 2011). The overall accumulation of a pollutant in a passive sampler follows first order kinetics:

$$C_s = C_w K_{sw} (1 - e^{-k_e t}) \text{ Eq. 9}$$

Where C_s and C_w are the sampler and water concentrations, K_{sw} is the sampler to water partition coefficient, t the exposure time and k_e the elimination rate constant related to the linearity limit $t_{1/2}$:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_e} = \frac{\ln 2 \times K_{sw} \times M_s}{\alpha_g \times A} \text{ Eq. 10}$$

Where M_s is the mass of sorbent, A the exposed surface area of the sampler and α_g the overall mass transfer coefficient. During the kinetic regime (i.e. initial linear sampling phase, $t < t_{1/2}$), the relation between C_s and C_w can be reduced and expressed with the sampling rate (R_s):

$$C_s = \frac{C_w R_s t}{M_s} \text{ Eq. 11}$$

Consequently, the time weighted average (TWA) water concentration can be deduced from Eq. 11 if R_s is previously evaluated in the laboratory. Otherwise, it is now established that R_s depends on exposure conditions (mainly water flow rate and fouling). Booij *et al.* (1998) first recommended the use of a PRC as a surrogate for exposure conditions in order to access quantitative data. With the assumption of isotropic exchanges, uptakes are related to the PRC dissipation ($k_{e \text{ PRC}}$). Thus, calibrated uptakes ($R_{s(\text{cal})}$) can be corrected ($R_{s(\text{corr})}$) as follows:

$$R_{s(\text{corr})} = \left(\frac{k_{e \text{ PRC}(\text{in situ})}}{k_{e \text{ PRC}(\text{cal})}} \right) \times R_{s(\text{cal})} \text{ Eq. 12}$$

C_s for a sorbent like Oasis HLB, MAX or Chromabond HR-X could follow a non-linear Langmuir isotherm (Bäuerlein *et al.*, 2012):

$$C_s = \frac{K_L C_{\max} C_w}{1 + K_L C_w} \text{ Eq. 13}$$

$$K_{sw} = K_L C_{\max} \text{ Eq. 14}$$

With K_L being the sorption equilibrium constant and C_{\max} the concentration at which the sorbent gets saturated.

However, when $C_s \ll C_{\max}$, K_{sw} can be considered as a constant and the Langmuir kinetic derivation is as follows:

$$K_{sw} = \frac{C_s}{C_w} = \frac{k_u}{k_e} \text{ Eq. 15}$$

4. Results and discussion

4.1. SPE retention volumes for acidic herbicides

Originally, two versions of POCIS (Alvarez *et al.*, 2004) were developed using a triphasic admixture (Isolute ENV+ polystyrene divinylbenzene, Amborsorb 1500 carbon, S-X3 BioBeads; named pesticide-POCIS) and the HLB sorbent (named pharmaceutical-POCIS). However, Mazzella and co-workers (2007) demonstrated recoveries close to zero for acidic compounds from the triphasic admixture (irreversible sorption or very low affinities), thus we focused on the HLB receiving phase. Nevertheless, in the same study, Mazzella *et al.* (2007) showed that acidic herbicides reach equilibrium rapidly and have a lower affinity for the receiving phase (lower K_{sw}) than neutral herbicides. Therefore, the $t_{1/2}$ of the first order kinetics of accumulation as well as K_{sw} must be enhanced to allow the use of POCIS as a passive sampler for organic acids. Consequently, regarding the nature of the receiving phase, improving the above kinetic parameters for acidic compounds could be achieved by increasing the specific surface area of the sorbent or modifying the interactions involved (e.g. Coulomb interactions). In this way, three polymeric sorbents were compared as a potential receiving phase for POCIS: HLB (reference sorbent), HRX and MAX. On the one hand, HRX increases the specific surface area of the sampler by increasing the amount of π - π interaction sites, but its conventional PS-DVB structure prevented polar interactions (mainly lone pair interactions ; Dias *et Poole*, 2002) by eliminating the NVP moieties. On the

other hand, MAX, which is composed of the same NVP and DVB moieties as those of HLB, with additional strong anion exchange sites (quaternary ammonium), can improve the ability to retain organic acids by Coulomb interactions.

Elution recoveries for each type of sorbent were found to be very close to 100% (between 79 and 108%) for all compounds, except from ESA metabolites on MAX sorbent (less than 15%). In a later experiment, good elution recoveries were obtained for these metabolites on 200 mg of Oasis MAX with 5 mL of sodium chloride 1 M / MeOH 50:50 (v/v). However, the incompatibility of sodium chloride with the ESI interface requires an additional and time consuming purification step which is to dilute the salty eluate in 200 mL of UPW (1.25 % MeOH content), and to perform the SPE step on Oasis HLB described in the Experimental section (data not shown).

By analogy with liquid chromatography, retention volumes of acidic herbicides were evaluated in SPE conditions (volume from which 50 % of the concentration is measured in the percolated fraction, see Experimental section). Although SPE cannot be directly compared with passive sampling (i.e. percolation and nonequilibrium processes versus diffusion), it can give a good picture of the relative affinities of the analytes for the various SPE materials (Bäuerlein *et al.*, 2012; Harman *et al.*, 2012). The results showed first a significantly higher capacity of MAX for acidic compounds, since retention volumes were higher than 1400 mL for all analytes, which supports the preponderance of Coulomb interactions on MAX for acidic compounds. No competition phenomena on the anion exchange functional groups were observed with carbonates, sulphates and chlorides in water, even if their concentrations were 500 to 10000 times higher than those of the analytes. Then, in spite of its hydrophobic character, HRX exhibited higher retention volumes (from 600 to 1400, and 50 mL for dicamba) than HLB (from 400 to 1400, and 50 mL for dicamba). Interestingly, the gain in retention provided by HRX is in the range of the gain in specific surface area (≈ 1.4) except for bentazon.

4.2. Comparison of uptakes in drinking water

As mentioned by Vrana *et al.* (2005), and with the assumption of global isotropic exchanges, the overall uptake of pollutants in passive samplers follows a first order kinetic law (Eq. 9). Its curve can be characterized by R_s and $t_{1/2}$, which are listed in Table 10 for all

compounds and illustrated in Figure 47 for three representative compounds (acetochlor - neutral moderately hydrophilic-, methomyl -neutral hydrophilic- and MCPA -acidic highly hydrophilic-). A pseudo-linear uptake was observed for neutral moderately hydrophilic and some acidic analytes. In this case Eq. 11 was used for determining R_s . For curvilinear uptakes, a non-linear regression (Eq. 9) was fitted to the experimental data, providing K_{sw} and k_e constants, and then R_s and $t_{1/2}$ value.

Chapitre IV. Développement d'un échantillonneur passif aquatique spécifique des composés acides

Table 10. Sampling rates of POCIS containing HRX, HLB and MAX sorbent in drinking water (DW) and river water spiked with 50 mg L⁻¹ of nitrate (RW)^a

	R _s (mL d ⁻¹)						t _{1/2} (d) ^f				K _{sw} (L g ⁻¹) ^f				
	Anionic	HRX	HRX	HLB	HLB	MAX	MAX	HLB	HLB	MAX	MAX	HLB	HLB	MAX	MAX
2,4-D	c	c	45	52	135	130	2.9	3.0	21	17	0.9	1.1	27	23	
Acetochlor	c	c	201	266	d	d	6.2	4.3	d	d	9.1	8.3	d	d	
Acetochlor OA	c	c	140	213	76 (4)	76 (6)	2.7	2.0	e	e	2.7	3.0	e	e	
Bentazon	c	c	160	205	171	171	3.4	2.8	16	13	3.9	4.1	28	25	
Chlorsulfuron	c	c	130	140	92 (3)	94 (6)	4.9	4.4	18	14	4.6	4.5	17	14	
Dicamba	c	c	c	c	91 (3)	89 (5)	c	c	e	e	c	c	e	e	
Dichlorprop	c	c	53	72	138	136	5.2	4.6	24	18	2.0	2.4	31	24	
Diclofop	c	c	85	102	186	166	22	16	17	11	13	12	32	22	
Fenoprop	c	c	113	128	163	152	5.2	4.8	15	18	4.2	4.4	26	28	
Iodosulfuron	c	c	187	194	102	100	6.6	6.4	9.3	14	8.9	8.9	12 (9)	15	
Ioxynil	c	c	343	424	302	266	7.1	5.2	e	e	18 (9)	16	e	e	
MCPA	c	c	37	41	149	148	3.9	4.6	e	e	1.0	1.3	e	e	
Mecoprop	c	c	53	74	122	120	4.2	3.8	e	e	1.6	2.0	e	e	
Mesotrione	c	c	78	63	48 (5)	48 (5)	3.2	3.3	13	15	1.8	1.5	7.4	8.1	
Metolachlor	c	c	170	249	d	d	7.1	4.5	d	d	8.8	8.1	d	d	
Metolachlor	c	c	124	205	69 (3)	73 (5)	2.7	1.9	e	e	2.4	2.7	e	e	
Metsulfuron-	c	c	127	162	90 (2)	89 (6)	5.1	4.4	e	e	4.7	5.1	e	e	
Nicosulfuron	c	c	90	117	58 (3)	63 (4)	7.4	4.9	20	26	4.8	4.2	11	15	
Sulcotrione	c	c	90	90	80 (4)	81 (4)	3.9	3.1	e	e	2.5	2.0	e	e	
Neutral															
Acetochlor	99 (3)	105	348	337	263	251	e	e	e	e	e	e	e	e	
Alachlor	90 (5)	96 (5)	325	301	184	184	e	e	e	e	e	e	e	e	
Atrazine	103	102	263	252	186	198	e	e	e	e	e	e	e	e	
Azoxystrobin	74 (4)	84 (2)	202	206	199	197	e	e	e	e	e	e	e	e	
Carbendazim	77	14 (9)	283	84 (4)	289	256	e	e	e	e	e	e	e	e	
Chlorfenvinph	108	108	279	279	238	217	e	e	e	e	e	e	e	e	
Chlortoluron	53 (6)	62 (4)	264	266	188	185	e	e	e	e	e	e	e	e	
DEA	18 (7)	17 (6)	286	287	129	146	6.4	7.6	5.3	5.9	13 (5)	16	5.0	6.2	
DET	65 (5)	75 (5)	421	418	235	303	7.8	8.3	5.4	4.3	24 (6)	25	9.2 (7)	9.4	
DIA	4 (11)	4 (9)	323	336	136	158	2.9	3.2	2.4	2.2	6.8	7.8	2.3 (7)	2.5	
Dimetomorph	93 (3)	99 (3)	261	260	193	190	e	e	e	e	e	e	e	e	
Diuron	49 (4)	56 (4)	208	212	162	164	e	e	e	e	e	e	e	e	
Hexazinone	22 (6)	21 (5)	129	123	65 (3)	76 (5)	e	e	e	e	e	e	e	e	
IPPMU	55 (5)	58 (5)	234	242	156	166	e	e	e	e	e	e	e	e	
IPPU	20 (6)	23 (6)	232	224	129	136	e	e	e	e	e	e	e	e	
Irgarol	100	105	287	252	173	187	e	e	e	e	e	e	e	e	
Isoproturon	61 (4)	66 (4)	207	211	148	152	e	e	e	e	e	e	e	e	
Linuron	51 (6)	60 (3)	187	178	146	150	e	e	e	e	e	e	e	e	
Metazachlor	60 (4)	63 (4)	148	155	154	153	e	e	e	e	e	e	e	e	
Methomyl	6 (7)	5 (7)	146	188	136	124	5.8	4.3	2.7	3.5	6.1	5.8	2.6 (6)	3.2	
Metolachlor	102	97 (3)	305	271	214	185	e	e	e	e	e	e	e	e	
Metoxuron	30 (5)	31 (5)	245	248	162	161	e	e	e	e	e	e	e	e	
Pyrimicarb	106	100	259	237	137	140	e	e	e	e	e	e	e	e	
Simazine	78 (5)	80 (5)	216	208	98 (4)	108	e	e	e	e	e	e	e	e	
Terbutylazin	125	124	321	298	172	175	e	e	e	e	e	e	e	e	
Thiodicarb	55 (4)	62 (4)	210	226	21 (5)	53 (5)	e	e	e	e	e	e	e	e	

a: relative standard deviations (% RSDs) are indicated in parentheses; b: charge = 1; c: not detected in the sampler; d: not eluted from the sorbent, see Experimental section; e: linear over more than 21 days, exponential regression not relevant; f: HRX not shown because pesticides were not found in the sampler (acidic herbicides), or linear over more than 21 days (neutral pesticides).

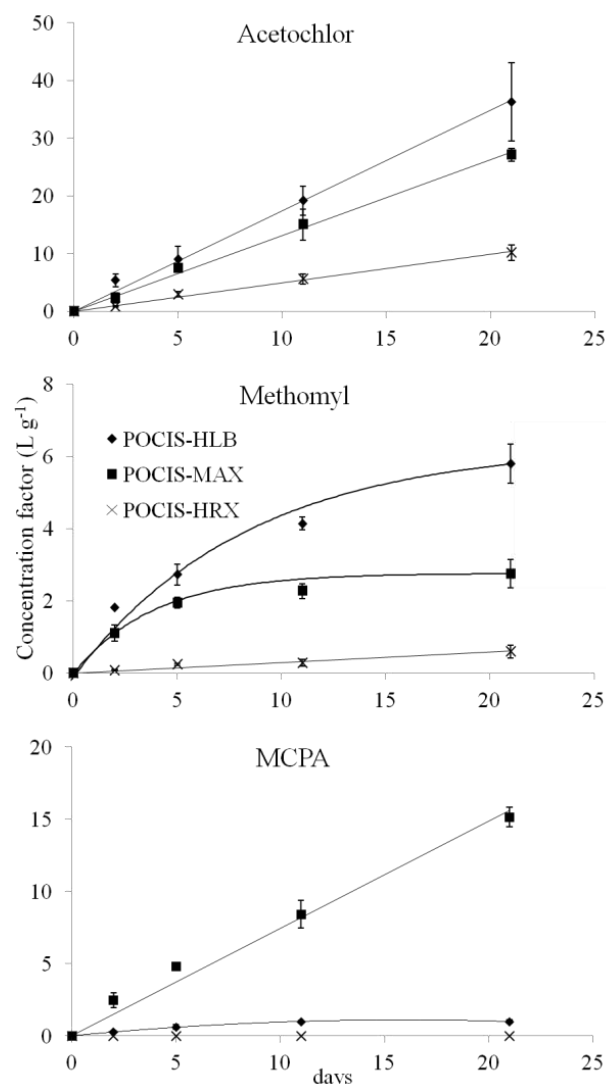


Figure 47. Uptake in POCIS-HLB, POCIS-HRX and POCIS-MAX for neutral (acetochlor), neutral hydrophilic (methomyl) and acidic herbicide (MCPA) in drinking water (bars represent the standard deviation, n=3).

Despite linear uptakes for hydrophilic neutral compounds, their R_{ss} were clearly different for the three devices. Due to the lower number of apolar moieties of MAX compared to HLB (Brousmiche *et al.*, 2008; Bäuerlein *et al.*, 2012), as well as its presumably unfavorable π - π interactions (steric hindrance due to the ammonium groups), POCIS-MAX R_{ss} were slightly lower than those observed for POCIS-HLB. Despite its theoretically higher specific surface area, POCIS-HRX presented very low R_{ss} for this class of compounds. Its hydrophobic character could cause weaker interactions between water and the sorbent in comparison to HLB. Indeed, analytes could interact only at the surface of the particles. As a consequence, the lack of wettability of the HRX sorbent could be a barrier (or a retarder) for sorption on the innermost sites. In contrast to the SPE (see previous section), our POCIS

procedure does not include a preconditioning step with organic solvent (MeOH), a step which makes available most interaction sites and thus enhances extraction efficiency (Fontanals *et al.*, 2007). Conversely, polar sorbents such like HLB were found to be efficient even with no conditioning step (Giacometti *et al.*, 2002; He *et al.*, 2005; Samanidou *et al.*, 2005). The most hydrophilic and water-soluble neutral compounds (i.e. methomyl, DEA, DET, DIA) exhibited curvilinear uptakes on both POCIS-HLB and POCIS-MAX with very low $t_{1/2}$ s whereas POCIS-HRX displayed linear accumulation at the expense of a very much lower R_s .

Even if acidic compounds' R_s s were higher on POCIS-HLB, their accumulations were found to be curvilinear and very low K_{sw} s were measured, while they were not sampled at all on POCIS-HRX. Moreover, POCIS-MAX demonstrated its ability for sampling organic acids, since R_s and $t_{1/2}$ were comparable to those observed for neutral compounds on POCIS-HLB. When comparing HLB and HRX, we noted differences in behaviour of these anionic compounds between SPE and passive sampling conditions: higher retention or breakthrough SPE volume (see previous section) does not mean higher passive sampling rates (Table 10), since i) additional forces (flow versus diffusion) deployed during SPE may facilitate access to the polymer pores and ii), as seen previously, the POCIS procedure does not include a conditioning step prior to exposure, and iii) the membrane may reduce selectively the transport of chemicals from the water phase to the receiving phase. (Vermeirssen *et al.*, 2012). It is likely that the addition of a conditioning step, as performed for the Chemcatcher (Smedes, 2007; Shaw *et al.*, 2009a), could improve POCIS-HRX performance. However, this step would complicate the sampler preparation procedure and the initial sampling could be tainted by large variability due to the conditioning solvent, causing poor reproducibility. The absence of anionic herbicides in POCIS-HRX can also be explained by the non-competitive character of the HRX sorbent with water for H-bonding interactions, which would make the sorption of these molecules into the sorbent thermodynamically unfavourable without the preliminary addition of a protic solvent (Bäuerlein *et al.*, 2012).

In summary, POCIS-HLB has shown again its applicability for moderately polar compounds and some limitations for the sampling of highly polar and acidic chemicals (Hernando *et al.*, 2005; Alvarez, 2007; Mazzella *et al.*, 2007; Togola et Budzinski, 2007; Arditsoglou et Voutsas, 2008; Bartelt-Hunt *et al.*, 2009; Martínez Bueno *et al.*, 2009; Harman *et al.*, 2011b; Li *et al.*, 2011; Lissalde *et al.*, 2011). Despite its higher specific surface area,

POCIS-HRX provided low R_s s for neutral compounds and even no sampling of organic acids. POCIS-MAX showed convincing uptake parameters for both neutral and acidic pesticides, except for the most hydrophilic neutral ones. However, competition with other anions may occur on Coulomb interaction sites, (Bäuerlein *et al.*, 2012) and linear isotherms are not verified yet. Thus, the relevance of MAX as a receiving phase in real-world conditions is still questionable.

4.3. Influence of nitrate on POCIS-MAX uptakes

The affinity of anions for the bonded cationic groups depends on their charge, concentration in aquatic environments and hydration volume. As a result, in surface water, nitrate, phosphate and chloride should be, in decreasing order, the most likely to compete with acidic herbicides.

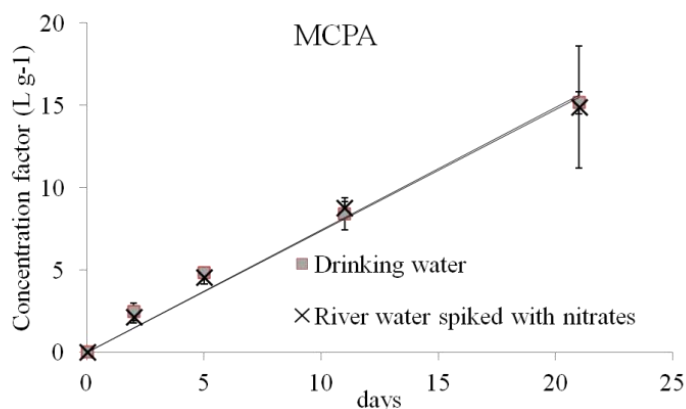


Figure 48. Uptake of MCPA in POCIS-MAX for drinking water (squares) and river water (crosses) spiked with 50 mg L⁻¹ of nitrate (bars represent the standard deviation, n=3).

Consequently, another calibration was set up using river water fortified with nitrates to evaluate the influence of real environmental matrices on sampling parameters. The results are listed in Table 10 and a comparison with the calibration in drinking water is illustrated in Figure 48. Surprisingly, both uptakes showed very similar slopes for all compounds, especially for organic acids on MAX, although their concentrations are two orders of magnitude lower than that of nitrates (≈ 0.1 versus 850 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Bäuerlein *et al.* (2012) observed a strong influence of chloride ions (from 130 $\mu\text{mol L}^{-1}$) but the operating conditions are not comparable (e.g. sorbent naked, steady state, mass of sorbent, etc.). Consequently,

the observations are not contradictory since the presence of additional anions would influence the water-sorbent partition in equilibrium conditions, but not necessarily during the kinetic regime of passive sampling. In other words, linear isotherms would be faithfully observed when $C_s \ll C_{max}$ for all the accumulated anions. In the same study, Bäuerlein *et al.* (2012) also showed that Coulomb interactions could be supported by van der Waals interactions for organic acids on a mixed-mode anion exchange sorbent. This could lead to a thermodynamically more favorable adsorption of organic acids than inorganic anions. Based on this observation, humic and fulvic acids, which are the most concentrated organic acids in river water, would be the most likely to compete with acidic herbicides for sorption on MAX. In our experiment, dissolved organic carbon was measured at very low concentrations ($< 1 \text{ mg L}^{-1}$) and further work is thus needed to evaluate the influence of higher concentrations of organic acids (i.e. 10 mg L^{-1}) on kinetic parameters.

4.4. Adsorption isotherms

It is generally considered that adsorption isotherms are linear if C_w is low, and then $C_s \ll C_{max}$. Few studies have addressed the influence of C_w on POCIS R_s (Alvarez *et al.*, 2004; Mazzella *et al.*, 2007; Togola et Budzinski, 2007; Arditsoglou et Voutsas, 2008), but to our knowledge no studies have aimed to assess the influence of C_w on K_{sw} . Thus, an experiment was conducted to evaluate the potential dependence of K_{sw} on C_w in order to verify the applicability of POCIS-MAX and POCIS-HLB in the range of pesticide concentrations typically measured in the environment. For this purpose, a single triplicate of each sampler was immersed in four microcosms containing drinking water spiked with 0.1, 0.5, 2 and $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ of each pesticide. Based on the $t_{1/2}$ values previously determined (Table 10), the exposure time (32 days) was optimized in order to reach the equilibrium state for most compounds. Therefore, the adsorption isotherm study only includes molecules exhibiting a curvilinear accumulation (i.e. molecules with a known $t_{1/2}$). The results (Table 11) show a proportional relationship between C_s and C_w for the selected analytes, both on HLB and MAX, reflecting linear adsorption isotherms (r^2 higher than 0.85) up to $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ in our laboratory conditions. In other words, even at the highest level (i.e. $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), total accumulated analytes (both anionic and neutral compounds) is lower than the maximum capacity of the sorbents. The comparison between K_d values (slope of $C_s=f(C_w)$) and K_{sw} values previously determined from

the non-linear kinetics (Table 11) allowed verification of Eq. 15, and confirmed the partitioning processes for the compounds that exhibited a plateau after several days of exposure (e.g. 2,4-D, chlorsulfuron, DIA). Nevertheless, bentazon and methomyl showed significant K_{sw} differences (Kruskal-Wallis test, $\alpha = 0.05$) on POCIS-HLB. As seen in the previous section, more work has to be done to assess the influence of natural organic acids on both R_s and K_{sw} in the range of concentrations typically measured in surface water.

Table 11. Isotherm study. % relative standard deviation in parentheses (n=12)

Herbicide	HLB			MAX		
	Kd	R ²	Ksw DW	Kd	R ²	Ksw DW
2,4-D	1.2 (6)	0.964	0.9 (8)	34 (9)	0.923	27 (30)
Acetochlor ESA	7.6 (4)	0.983	9.1 (10)	a	a	a
Acetochlor OA	1.9 (4)	0.986	2.7 (7)	a	a	a
Bentazon	2.2 (4)	0.984	3.9 (6)	21 (7)	0.968	28 (23)
Chlorsulfuron	5.2 (3)	0.990	4.6 (7)	15 (1)	0.998	17 (18)
Dichlorprop	1.3 (3)	0.991	1.8 (6)	25 (5)	0.986	31 (23)
Diclofop	9.8 (6)	0.958	13 (45)	25 (11)	0.923	32 (27)
Fenoprop	2.6 (8)	0.941	4.2 (6)	21 (3)	0.996	26 (15)
Iodosulfuron	8.9 (4)	0.986	8.9 (7)	17 (2)	0.997	12 (9)
loxynil	14 (4)	0.982	17 (9)	a	a	a
MCPA	0.8 (12)	0.858	0.9 (7)	a	a	a
Mecoprop	1.7 (7)	0.946	1.6 (7)	a	a	a
Mesotrione	1.3 (2)	0.993	1.8 (5)	4.7 (5)	0.969	7.1 (23)
Metolachlor ESA	7.8 (3)	0.988	8.8 (9)	a	a	a
Metolachlor OA	2.5 (3)	0.992	2.4 (10)	a	a	a
Metsulfuron	5.4 (2)	0.994	4.7 (9)	a	a	a
Nicosulfuron	3.7 (2)	0.995	4.8 (10)	15 (4)	0.986	11 (25)
Sulcotrione	1.6 (3)	0.991	2.5 (6)	a	a	a
DEA	14 (8)	0.931	13 (5)	5.1 (5)	0.973	5.4 (14)
DET	24 (8)	0.930	24 (6)	11 (2)	0.993	9.2 (7)
DIA	6.2 (5)	0.969	6.8 (5)	2.4 (4)	0.986	2.3 (7)
Methomyl	4.2 (3)	0.990	6.1 (5)	2.5 (3)	0.991	2.6 (6)

a: equilibrium not reached

4.5. Performance and reference compound approach (PRC)

Since it was shown that semi permeable membrane devices (SPMD) R_s depend on the physical parameters of the sampling sites (boundary layer thickness, water temperature and fouling), Booij *et al.* (1998) and Huckins *et al.* (2002) have first introduced the PRC approach to correct the calibrated R_s by comparing releases of several PRCs observed *in situ* and in the laboratory (Eq. 12). This approach was developed for a hydrophobic passive sampler and allowed access to quantitative data, though requiring isotropic exchanges (evidence of isotropic behaviour of absorption). Mazzella *et al.* (2010) amended this method for POCIS and showed better concentration estimates for real field exposures by comparing the deduced TWA concentrations provided by POCIS corrected with PRC, to a reference concentration provided by an automated sampler. Because of the multiple interactions involved on HLB, some uncertainties remain concerning the applicability of the PRC approach for POCIS-HLB (Harman *et al.*, 2011a). Nevertheless, apart from *in situ* calibration (Harman *et al.*, 2011b) which is generally difficult to implement (calibrations needed at each sampling site), it is to date the most efficient way to obtain nearly quantitative concentrations of polar compounds in water by passive sampling.

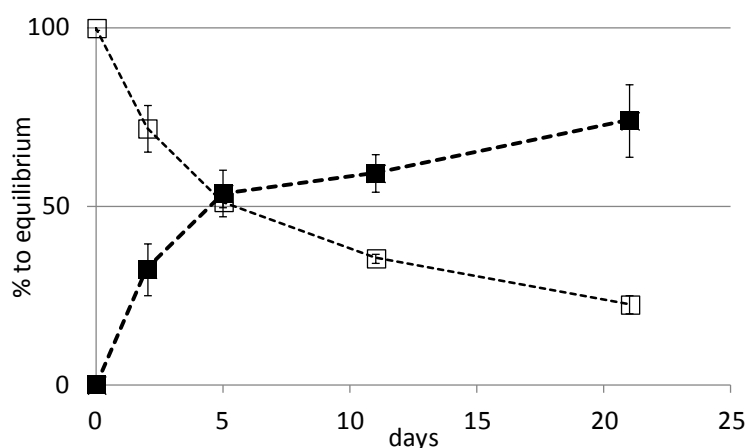


Figure 49. Uptake of DIA (solid symbols) and release of DIA-d5 (open symbols) from POCIS-MAX expressed in percent of K_{sw} for uptake and percent of initial amount for release ($n=3$, drinking water).

DIA-d5 and dicamba-d3 were chosen as PRCs to describe the elimination of neutral and acidic pesticides. Very low releases of both PRCs were measured on POCIS-HRX (less than 20 % for 21 days, data not shown), in agreement with the low R_s s previously observed on this

device. Indeed, while PRCs are added to the sorbent with MeOH, their desorptions occur with water only. Such a solvent is less able to penetrate to the innermost parts of the PS-DVB polymer, and then a huge amount of PRC added with MeOH may not be accessible for water desorption during POCIS exposure. Therefore, these observations support the idea that not all interaction sites are available for the sorption of analytes on HRX sorbent in passive sampling conditions. Otherwise, strong desorption of DIA-d5 was observed on POCIS-MAX (loss of $\approx 75\%$, $k_e = 0.104 \pm 0.009 \text{ d}^{-1}$, Figure 49) which is comparable to the POCIS-HLB $k_{e(\text{DIA-d5})}$ measured in an earlier study (0.057 d^{-1} ; Mazzella *et al.*, 2010), considering different flow velocities (2-3 versus 5-8 cm s^{-1}). Isotropic exchange kinetics can therefore be assessed using the uptake and release to equilibrium approach (Shaw *et al.*, 2009a; Camilleri *et al.*, 2012). As illustrated in Figure 49, uptakes and releases had comparable pseudo half-times (i.e. uptake-release crosspoint close to 50 %), which means that isotropy is nearly verified for DIA-d5 considering RSDs of about 7 %. DIA-d5 is thus an applicable PRC for both POCIS-MAX to achieve quantitative data for similar compounds (i.e., controlled in the same way by the membrane and/or the water boundary layer; Harman *et al.*, 2011a; Vermeirssen *et al.*, 2012). Furthermore, isotropic exchanges could not be verified for dicamba on POCIS-MAX (no desorption and linear uptake, data not shown). For longer exposures, it would not be surprising to observe anisotropy as Coulomb interaction is the dominant sorption process for acidic compounds on MAX. If no competition is observed on POCIS-MAX with other anions, the PRC approach could be implemented to overcome the impact of hydrodynamics and fouling, and it could be a quantitative tool for the passive sampling of acidic as well as neutral hydrophilic organic pesticides, assuming that analytes and PRCs diffusions are similarly controlled by the water boundary layer or the membrane.

Acknowledgment

The authors would like to thank the Region Aquitaine, FEDER, and the ANR RIPOST for financial support and Brigitte Delest, Muriel Bonnet and Maryse Boudigues for their technical support.

4. CONCLUSION PARTIELLE

Contrairement aux composés modérément polaires (i.e. $1 < \log K_{ow} < 4$), l'accumulation curvilinéaire et les phénomènes biphasiques mis en évidence pour les composés très polaires ionisables ou neutres (i.e. $\log K_{ow} < 1$) montrent clairement l'inadéquation du POCIS conventionnel pour l'échantillonnage de cette gamme de composés. Cependant, les développements décrits précédemment montrent qu'il est possible de parvenir à une accumulation convenable des composés organiques acides en faisant varier la géométrie de l'échantillonneur (i.e. diminution du ratio aire exposée sur masse de phase réceptrice : P-400, P-600, μ P-200, μ P-400, DGT-HLB) ou bien en modifiant la nature des interactions mises en jeu, notamment en utilisant une phase réceptrice de type « mixed mode anion exchange » (i.e. POCIS-MAX). Les différents outils développés (protocoles détaillés en annexes 10 à 13) disposent chacun d'avantages et d'inconvénients qui définissent leurs domaines d'application. Ils pourraient donc être utilisés sélectivement en fonction des contraintes propres à chaque étude : matrice à échantillonner, limites de quantification désirées, capacité d'accumulation requise, molécules recherchées, etc. Par ailleurs, l'étude des isothermes d'adsorption pour le POCIS-HLB et le POCIS-MAX a démontré le potentiel de ces outils pour la quantification des pesticides sélectionnés à l'état de traces ou, au contraire, à des concentrations environnementales très élevées (i.e. $10 \mu\text{g.L}^{-1}$) pendant plusieurs jours.

Du fait des interactions multiples entre les analytes très polaires et la phase réceptrice, le modèle à deux compartiments traditionnellement utilisé pourrait être remis en cause, et invalider de ce fait la pertinence de l'approche PRC pour accéder à des données quantitatives. Toutefois, d'après les observations réalisées avec nos données expérimentales, il s'avère que l'erreur liée à l'utilisation d'un modèle monophasique n'est significative que pour les premiers jours d'exposition. Ainsi, ces observations couplées à la mise en évidence d'échanges isotropes confirment partiellement l'applicabilité de l'approche PRC pour les échantillonneurs développés. Par ailleurs, il est à noter que le DGT-HLB pourrait proposer des données directement quantitatives grâce à l'utilisation du gel diffusif, ce qui constituerait une alternative à l'approche PRC dont l'intérêt pour les

composés polaires n'a été démontré que de façon empirique sur le terrain (Lissalde, 2010; Mazzella *et al.*, 2010; Lissalde *et al.*, 2011).

Certaines zones d'ombre méritent toutefois d'être éclaircies, comme la dépendance des DGT-HLB à la température du milieu, ou l'influence de potentiels contre-ions naturellement présents dans les masses d'eau (substances humiques ou chlorures par exemple) sur l'accumulation des herbicides anioniques dans le POCIS-MAX. Par conséquent, ces outils doivent faire l'objet de travaux additionnels dans des conditions contrôlées de laboratoire (étude de l'effet de la température pour les DGT-HLB par exemple), et dans des conditions d'application réelle pour vérifier la pertinence de leur utilisation (calibration *in situ* par exemple).

Synthèse
et
Perspectives

Liste des figures

Figure 50. Comportement et paramètres cinétiques des herbicides acides par rapport aux différents échantillonneurs développés. 196

Depuis les années 1950, l'explosion de la consommation de pesticides pour des usages agricoles et non agricoles a engendré une contamination quasi généralisée des masses d'eau à l'échelle planétaire. Des études rapportent des pollutions diffuses des eaux de surface, souterraines et littorales à travers les cinq continents, depuis le cercle polaire jusqu'à l'équateur (Boyd, 2000; Isaksson *et al.*, 2003; Bocquené et Franco, 2005; Kennedy *et al.*, 2012). Le transfert des pesticides depuis la zone d'application vers les différents compartiments de l'environnement est étroitement lié au cycle de l'eau, qui constitue le vecteur privilégié de transport des substances actives. Par conséquent, les composés très hydrophiles et hydrosolubles (dont les herbicides acides) sont les plus susceptibles d'être transférés vers le compartiment aquatique. Les milieux littoraux, réceptacles finaux des contaminants, ont longtemps été délaissés dans les suivis environnementaux du fait des faibles concentrations attendues et des difficultés analytiques qui en découlent. Toutefois, Munaron *et al.* (2012) ont montré que les concentrations en pesticides mesurées sur le littoral méditerranéen étaient maximales dans les milieux lagunaires, du fait qu'ils drainent de larges bassins versants où les usages de produits phytosanitaires peuvent être nombreux. Le Bassin d'Arcachon n'échappe évidemment pas à cette tendance (Auby *et al.*, 2007; Rapport Ascobar, 2009), et des crises environnementales récentes (régression de l'herbier de zostères, mortalité des naissains d'huîtres) interrogent l'impact réel de ces substances. En effet, bien que les pesticides soient conçus pour agir sur les processus métaboliques fondamentaux des organismes vivants ciblés, leur large spectre d'action (pesticides généralement non-sélectifs) leur procure un potentiel toxique évident sur les différents maillons de l'écosystème récepteur.

Herbicides acides et contamination des tributaires du Bassin d'Arcachon

Le programme régional de recherche OSQUAR (Ostréiculture et Qualité du milieu, approche dynamique du bassin d'Arcachon) vise à mieux comprendre les relations entre l'ostréiculture et les différents forçages anthropiques, dont la pression phytosanitaire. Un premier volet de ce travail de thèse, inscrit dans la sous-thématique « pesticide » de ce programme, consiste à suivre la contamination des neuf principaux tributaires du Bassin d'Arcachon (*cf.* chapitre III). Ce suivi se démarque des précédents (Auby *et al.*, 2007; Rapport Ascobar, 2009) par l'utilisation d'échantillonneurs passifs pour l'échantillonnage des pesticides neutres hydrophiles (environ 50 % des molécules suivies), par l'élargissement de

la sélection de pesticides étudiés (intégration de pesticides hydrophobes et d'herbicides acides), et par l'adoption d'une stratégie d'échantillonnage annuelle continue. Il porte sur 66 composés issus d'une vingtaine de familles différentes qui peuvent avoir des effets fongicide, insecticide, ou herbicide ; et qui présentent des caractéristiques chimiques variées (très hydrophiles à hydrophobes, acides et neutres). Des mises au point méthodologiques spécifiques ont donc été engagées (développement et validation d'une méthode analytique off line SPE-HILIC-ESI-MS², cf. chapitre II) afin de faciliter l'analyse de la classe de contaminants « herbicides anioniques », qui occupe une place centrale dans l'ensemble des travaux présentés dans ce manuscrit. En effet, les herbicides acides sont à la fois très répandus et souvent peu considérés dans les suivis environnementaux (tricétones, sulphonylurées, métabolites acides des chloroacétanilides). Ils sont donc généralement considérés comme émergents au même titre que d'autres acides organiques (produits pharmaceutiques, perturbateurs endocriniens, drogues illicites, etc.).

Les deux années d'acquisition de données révèlent tout d'abord des profils de contamination atypiques avec des concentrations maximales en hiver qui s'avèrent être plus dépendantes des débits des cours d'eau et des hauteurs de nappes phréatiques, que des périodes d'applications des substances. Ainsi, il est probable que les contaminants suivent un chemin inhabituel et caractéristique du milieu des Landes de Gascogne, constitué d'une première composante de transfert vertical par infiltration vers la nappe phréatique affleurante (forte perméabilité du sol sableux), suivi d'une deuxième composante de transfert horizontal entre le toit de la nappe et le cours d'eau. L'ensemble des résultats mettent également en évidence la prépondérance en concentration et en fréquence de détection des métabolites ESA et OA des chloroacétanilides dans la quasi-totalité des tributaires ; ce qui constitue une avancée majeure dans la caractérisation de la contamination en pesticides du Bassin d'Arcachon. Aussi, le manque de données écotoxicologiques concernant ces derniers composés nous a amené à étudier les effets potentiellement délétères de ces composés. Des travaux menés en collaboration avec Vincent Roubéix (Irstea, équipe Carma) ont notamment révélé que les métabolites des chloroacétanilides étaient *a priori* nettement moins toxiques que les molécules mères pour le périphyton benthique autochtone.

La génération de données de contamination des principaux affluents du Bassin d’Arcachon a également permis d’alimenter un projet de modélisation de la dispersion des apports en pesticides continentaux à l’intérieur de la lagune en collaboration avec l’Ifremer d’Arcachon (Martin Plus, application du modèle hydrodynamique MARS 2D) et le laboratoire EPOC-LPTC (Angel Belles, mesures de la contamination réelle dans la lagune). Les premiers résultats obtenus indiquent une bonne correspondance entre concentrations simulées et mesurées en différents points du Bassin, que ce soit en niveau de concentration ou en variabilité annuelle.

Elaboration d’un échantillonneur passif spécifique des herbicides acides

Bien que la caractérisation de la contamination en pesticides du Bassin d’Arcachon ait progressé avec ce nouveau programme OSQUAR, plusieurs lacunes ont été mises en évidence. Parmi elles, l’absence d’échantillonneur passif spécifique des composés organiques acides s’est avérée être particulièrement problématique du fait de la forte représentation de ce type de contaminants à l’échelle du bassin versant. De plus, l’importance de ces composés au niveau national (bentazone, dicamba, 2,4-D par exemple), ainsi que leur forte mobilité dans l’environnement (pics de contamination fugaces) appuient la nécessité de développer un dispositif d’échantillonnage passif approprié. Des travaux exploratoires basés sur l’utilisation d’outils préexistants (POCIS et DGT) ont donc été menés afin d’obtenir un outil capable d’une part d’échantillonner les herbicides acides pendant plusieurs semaines, et d’autre part de préconcentrer fortement ces analytes *in situ* (taux d’échantillonnage élevés).

Plusieurs outils dérivés du POCIS ont tout d’abord été développés en modifiant sélectivement la masse de phase réceptrice (P-400, P-600), l’aire exposée (μ P-200) ou la nature de la phase réceptrice (POCIS-MAX). L’intérêt principal de tels échantillonneurs réside dans leur aptitude à échantillonner à la fois les composés hydrophiles neutres et acides. La Figure 50 illustre les gains de linéarité ($t_{1/2}$) et de capacité d’accumulation (R_s), dans le cas d’un composé organique acide et pour chaque échantillonneur développé. Plusieurs tendances générales notables se dégagent :

- Le format POCIS propose des taux d’échantillonnage très élevés, mais des $t_{1/2}$ très faibles dans le cas du POCIS-HLB (P-200, P-400, P-600).

- Le format DGT (μ POCIS et DGT-HLB) permet d'augmenter considérablement le $t_{1/2}$, mais souffre d'une faible capacité d'accumulation.
- Le POCIS-MAX constitue un bon compromis entre les deux paramètres.

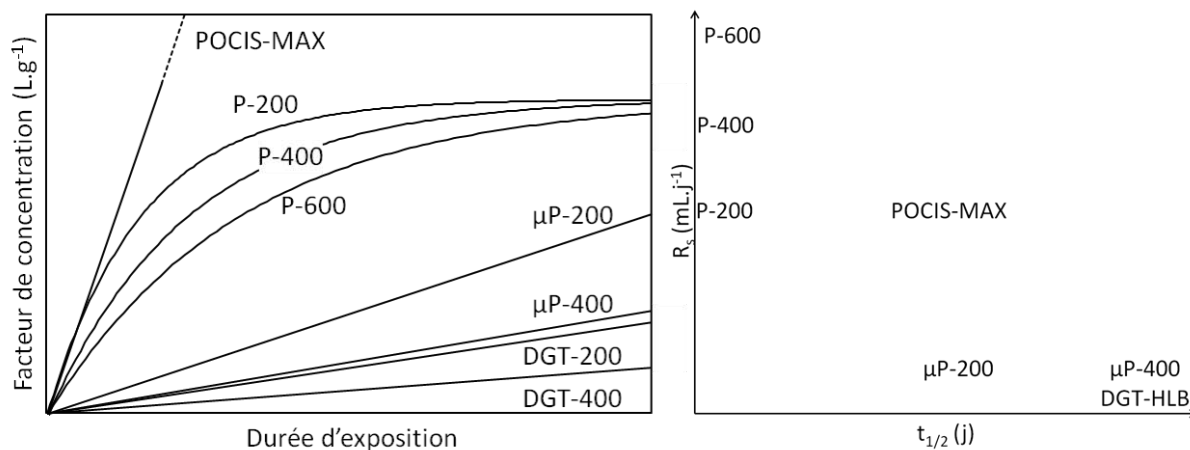


Figure 50. Comportement et paramètres cinétiques des herbicides acides par rapport aux différents échantillonneurs développés.

Le POCIS-MAX semblerait donc s'imposer comme la solution la plus prometteuse pour l'échantillonnage passif des acides organiques. Toutefois, bien que nous ayons montré dans le chapitre IV que ses paramètres d'échantillonnage sont indépendants de la concentration en nitrates du milieu, des doutes persistent concernant des phénomènes de compétition éventuels avec d'autres types d'anions, notamment organiques (e.g. acides humiques). De plus, l'avantage du POCIS-MAX sur le μ POCIS concernant sa capacité à accumuler les contaminants doit être relativisé. En effet, d'un point de vue analytique, la corrélation entre un taux d'échantillonnage élevé et des limites de quantification réduites n'est pas si évidente et mérite d'être nuancée, à plus forte raison si l'échantillonneur est exposé dans des conditions réelles (e.g. matrice environnementale chargée en matière organique dissoute). En effet, nous avons vu précédemment que l'analyse des composés hydrophiles s'effectue préférentiellement par HPLC-ESI-MS², technique sensible aux effets matriciels (Taylor, 2005, cf. chapitre II). Afin d'éliminer ces effets de matrice, il peut être nécessaire de diluer d'un facteur 10 à 100 les extraits d'échantillonneurs passifs (Lissalde *et al.*, 2011). Par conséquent, les limites de quantification associées à un échantillonneur passif dépendent d'une part de son taux d'échantillonnage, et d'autre part de la pureté de l'échantillon. Ainsi, malgré des taux d'échantillonnage environ 30 fois inférieurs, le μ POCIS n'est pas nécessairement pénalisé par rapport au POCIS-MAX du point de vue de ses limites de

quantification. *A contrario*, si l'on considère le dispositif d'échantillonnage passif comme un accumulateur *in situ* pour obtenir un cocktail de contaminants représentatif en vue de tests écotoxicologiques (Escher *et al.*, 2006; Shaw *et al.*, 2009b; Vermeirssen *et al.*, 2009; Pesce *et al.*, 2011; Morin *et al.*, 2012b), le format POCIS sera nettement plus avantageux, *a fortiori* dans sa version P-600 (R_s maximum, Figure 50).

La pertinence de l'application de l'approche PRC dans le cas du POCIS (Mazzella *et al.*, 2007), largement débattue dans la littérature, a également pu être confirmée partiellement par la vérification des propriétés isotropes des échanges mis en jeu entre la phase réceptrice et les PRC potentiels (symétrie des cinétiques d'accumulation et de désorption). Néanmoins, il est envisageable que les PRC choisis (composés très hydrophiles capables de désorber de la phase réceptrice) soient soumis à des mécanismes de rétention différents des autres composés échantillonnés plus hydrophobes (Harman *et al.*, 2011a). Ainsi, la correction des conditions environnementales, et hydrodynamiques plus particulièrement, pourrait être approximative pour certains analytes cibles ayant des propriétés chimiques différentes des PRC utilisés. Par conséquent, l'adaptation de la technique DGT (DGT-HLB) semble être pour l'heure la méthode quantitative d'échantillonnage passif des herbicides acides la plus prudente, parce qu'indépendante des conditions hydrodynamiques. Assurément, cette alternative n'est pas sans déconvenues, puisque d'une part le gel de diffusion du DGT bannit la diffusion et donc l'accumulation des composés neutres, ce qui diminue *de facto* le domaine d'applicabilité de l'outil ; et d'autre part les taux d'échantillonnage sont encore réduits de moitié par rapport à ceux observés sur les μ POCIS (Figure 50).

Perspectives

La connaissance de la contamination en pesticides du Bassin d'Arcachon a fortement progressé lors de ces deux années de suivi intensif grâce à l'action concertée de plusieurs équipes de recherche complémentaires. Toutefois, les enjeux environnementaux, économiques et culturels qui en dépendent mériteraient de poursuivre un suivi plus efficace, qui inclurait de manière systématique des interactions fortes entre veille des changements d'usages, suivi chimique du milieu, et tests écotoxicologiques. Ces actions concertées permettraient de mieux appréhender le cocktail réel de contaminants ainsi que son potentiel toxique sur le biote autochtone. De manière plus spécifique, l'amélioration de la

caractérisation de la contamination chimique nécessiterait la généralisation de l'utilisation d'échantillonneurs passifs pour tous les types de contaminants, dont les herbicides anioniques qui représentent une part non négligeable de la contamination totale.

Les travaux exploratoires présentés dans ce manuscrit pour pallier l'absence de dispositif d'échantillonnage passif spécifique des acides organiques proposent plusieurs approches qui mériteraient toutefois d'être approfondies. En effet, divers aspects restent à élucider, à la fois sur la compréhension des mécanismes de fonctionnement théoriques et sur l'applicabilité en conditions réelles de chacun des outils élaborés.

Le POCIS-MAX s'avère être le dispositif le plus attractif, mais nécessite d'évaluer l'influence spécifique de certaines espèces chimiques naturellement présentes dans l'eau (substances humiques ou chlorure par exemple) sur ses paramètres cinétiques. Si des phénomènes de compétition sont mis en évidence, alors le μ POCIS constituerait une alternative prometteuse. L'utilisation quantitative de ces deux outils suppose toutefois que la validité de l'approche PRC ait été vérifiée au préalable. Les difficultés rencontrées pour prouver ou réfuter l'applicabilité de cette approche pour les échantillonneurs passifs polaires peuvent cependant être contournées grâce à l'utilisation du DGT-HLB. En effet, moyennant un examen attentif de l'influence de la température du milieu et du biofouling, le DGT-HLB serait probablement le dispositif le plus opérationnel. Par ailleurs, des développements pourraient être envisagés afin d'optimiser d'une part son fonctionnement (optimisation de l'aire exposée et de la masse de phase réceptrice), et d'autre part son domaine d'application (extension aux composés neutres en modifiant la nature du gel de diffusion).

Enfin, les échantillonneurs sélectionnés devront faire l'objet par la suite d'études *in situ*, dans différents types de milieux (eaux douces continentales, de transition et littorales), par comparaison à une mesure de référence (échantillonnage automatique par exemple) afin d'en déterminer la robustesse (influence des conditions de terrain et les performances réelles).

Bibliographie

Bibliographie

- 2000/60/EC D. 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. OJ L 327:1-73.: p 74.
- Aguilar A, Borrell A. 2005. DDT and PCB reduction in the western Mediterranean from 1987 to 2002, as shown by levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Marine Environmental Research* 59:391-404.
- Akcha F, Spagnol C, Rouxel J. 2012. Genotoxicity of diuron and glyphosate in oyster spermatozoa and embryos. *Aquatic Toxicology* 106–107:104-113.
- Al Housari F, Höhener P, Chiron S. 2011. Factors responsible for rapid dissipation of acidic herbicides in the coastal lagoons of the Camargue (Rhône River Delta, France). *Science of The Total Environment* 409:582-587.
- Allan IJ, Nilsson HC, Tjensvoll I, Bradshaw C, Næs K. 2011. Mobile passive samplers: Concept for a novel mode of exposure. *Environmental Pollution* 159:2393-2397.
- Allan IJ, Vrana B, Greenwood R, Mills GA, Roig B, Gonzalez C. 2006. A "toolbox" for biological and chemical monitoring requirements for the European Union's Water Framework Directive. *Talanta* 69:302-322.
- Alpert AJ. 1990. Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds. *Journal of Chromatography A* 499:177-196.
- Alpert AJ. 2008. Electrostatic repulsion hydrophilic interaction chromatography for isocratic separation of charged solutes and selective isolation of phosphopeptides. *Analytical Chemistry* 80:62-76.
- Alvarez DA. 1999a. Development of an integrative sampling device for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments: University of Missouri-Columbia.
- Alvarez DA. 1999b. Development of an integrative sampling device for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. In: University of Missouri-Columbia.
- Alvarez DA. 2007. Chapter 8 Tool for monitoring hydrophilic contaminants in water: polar organic chemical integrative sampler (POCIS). In: Greenwood R, Mills G, Vrana B, editors. *Comprehensive Analytical Chemistry*: Elsevier. p 171-197.
- Alvarez DA, Petty JD, Huckins JN, Jones-Lepp TL, Getting DT, Goddard JP, Manahan SE. 2004. Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. *Environ. Toxicol. Chem.* 23:1640-1648.
- Alvarez DA, Petty JD, Huckins JN, Manahan SE. 2000. Development of an integrative sampler for polar organic chemicals in water. *ACS Division of Environmental Chemistry* 40:71-74.
- Alzieu C. 2001. Arcachon bay and tributyltin: Mariculture and antifouling paints. *Le bassin d'Arcachon et le tributylétain: conchyliculture et peintures antisalissures* 27:239-255.
- Arditsoglou A, Voutsas D. 2008. Passive sampling of selected endocrine disrupting compounds using polar organic chemical integrative samplers. *Environmental Pollution* 156:316-324.
- Arrêté du 24 juillet. 2012. Arrêté du 24 juillet 2012 relatif à l'interdiction d'utilisation et de mise sur le marché pour utilisation sur le territoire national des semences de crucifères oléagineuses traitées avec des produits phytopharmaceutiques contenant la substance active thiametoxam. In.
- Aubertot JN, Barbier JM, Carpentier A, Gril JJ, Guichard L, Lucas P, Savary S, Savini I, Voltz M. 2005. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA et Cemagref (France). Inra Cemagref:p.64.

- Auby I, Bocquene G, Quiniou F, Dreno J-P. 2007. Etat de la contamination du Bassin d'Arcachon par les insecticides et les herbicides sur la période 2005-2006. Impact environnemental. IFREMER.
- Backhaus T, Altenburger R, Arrhenius Å, Blanck H, Faust M, Finizio A, Gramatica P, Grote M, Junghans M, Meyer W, Pavan M, Porsbring T, Scholze M, Todeschini R, Vighi M, Walter H, Horst Grimme L. 2003. The BEAM-project: Prediction and assessment of mixture toxicities in the aquatic environment. *Continental Shelf Research* 23:1757-1769.
- Balinova A. 1993. Solid-phase extraction followed by high-performance liquid chromatographic analysis for monitoring herbicides in drinking water. *Journal of Chromatography A* 643:203-207.
- Balinova A. 1996. Ion-pairing mechanism in the solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of acidic herbicides in water. *Journal of Chromatography A* 728:319-324.
- Barriuso E, Calvet R, Schiavon M, Soulas G. 1996. Les pesticides et les polluants organiques des sols. *Etude et gestion des sols* 3:4.
- Bartelt-Hunt SL, Snow DD, Damon T, Shockley J, Hoagland K. 2009. The occurrence of illicit and therapeutic pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters in Nebraska. *Environmental Pollution* 157:786-791.
- Basheer C, Lee HK, Obbard JP. 2002. Determination of organochlorine pesticides in seawater using liquid-phase hollow fibre membrane microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 968:191-199.
- Bäuerlein PS, Mansell JE, Ter Laak TL, De Voogt P. 2012. Sorption behavior of charged and neutral polar organic compounds on solid phase extraction materials: Which functional group governs sorption? *Environmental Science and Technology* 46:954-961.
- Beasley V, Brannian R, Cochran J, Cole R. 2002. Environmental factors that affect amphibian community structure and health as indicators of ecosystems. U.S. EPA.
- Beaudegnies R, Edmunds AJF, Fraser TEM, Hall RG, Hawkes TR, Mitchell G, Schaetzer J, Wendeborn S, Wibley J. 2009. Herbicidal 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors—A review of the triketone chemistry story from a Syngenta perspective. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17:4134-4152.
- Bending GD, Lincoln SD, Edmondson RN. 2006. Spatial variation in the degradation rate of the pesticides isoproturon, azoxystrobin and diflufenican in soil and its relationship with chemical and microbial properties. *Environmental Pollution* 139:279-287.
- Bennett W, Teasdale P, Panther J, Welsh D, Jolley D. 2010. New Diffusive Gradients in a Thin Film Technique for Measuring Inorganic Arsenic and Selenium(IV) Using a Titanium Dioxide Based adsorbent. *Analytical Chemistry* 82:7401–7407.
- Beuffe H, Vernier F. 1999. Occupation du sol et qualité des eaux, cas de l'écosystème sableux landais. *Agriculture and the Environment: Challenges and Conflicts for the new Millennium*, University of Warwick, GBR.
- Bicker W, Wu JY, Lämmerhofer M, Lindner W. 2008. Hydrophilic interaction chromatography in nonaqueous elution mode for separation of hydrophilic analytes on silica-based packings with noncharged polar bondings. *Journal of Separation Science* 31:2971-2987.

- Blanchoud H, Moreau-Guigon E, Farrugia F, Chevreuil M, Mouchel JM. 2007. Contribution by urban and agricultural pesticide uses to water contamination at the scale of the Marne watershed. *Science of The Total Environment* 375:168-179.
- Blanck H. 2002. A critical review of procedures and approaches used for assessing pollution-induced community tolerance (PICT) in biotic communities. *Human and Ecological Risk Assessment* 8:1003-1034.
- Bocquené G, Franco A. 2005. Pesticide contamination of the coastline of Martinique. *Marine Pollution Bulletin* 51:612-619.
- Böger P, Matthes B, Schmalfuß J. 2000. Towards the primary target of chloroacetamides - New findings pave the way. *Pest Management Science* 56:497-508.
- Boncristiani H, Underwood R, Schwarz R, Evans JD, Pettis J, vanEngelsdorp D. 2012. Direct effect of acaricides on pathogen loads and gene expression levels in honey bees *Apis mellifera*. *Journal of Insect Physiology* 58:613-620.
- Bonnineau C, Guasch H, Proia L, Ricart M, Geiszinger A, Román AM, Sabater S. 2010. Fluvial biofilms: A pertinent tool to assess β -blockers toxicity. *Aquatic Toxicology* 96:225-233.
- Booij K, Sleiderink HM, Smedes F. 1998. Calibrating the uptake kinetics of semipermeable membrane devices using exposure standards. *Environ. Toxicol. Chem.* 17:1236-1245.
- Bossi R, Vejrup KV, Mogensen BB, Asman WAH. 2002. Analysis of polar pesticides in rainwater in Denmark by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 957:27-36.
- Bouchet J-M, Deltreil J-P, Manaud F, Maurer D, Trut G. 1997. Etude intégrée du Bassin d'Arcachon. IFREMER.
- Boyd RA. 2000. Herbicides and herbicide degradates in shallow groundwater and the Cedar River near a municipal well field, Cedar Rapids, Iowa. *Science of The Total Environment* 248:241-253.
- Brakes CR, Smith RH. 2005. Exposure of non-target small mammals to rodenticides: short-term effects, recovery and implications for secondary poisoning. *Journal of Applied Ecology* 42:118-128.
- Brousmiche DW, O'Gara JE, Walsh DP, Lee PJ, Iraneta PC, Trammell BC, Xu Y, Mallet CR. 2008. Functionalization of divinylbenzene/N-vinylpyrrolidone copolymer particles: Ion exchangers for solid phase extraction. *Journal of Chromatography A* 1191:108-117.
- Camilleri J, Morin N, Miège C, Coquery M, Cren-Olivé C. 2012. Determination of the uptake and release rates of multifamilies of endocrine disruptor compounds on the polar C18 Chemcatcher. Three potential performance reference compounds to monitor polar pollutants in surface water by integrative sampling. *Journal of Chromatography A* 1237:37-45.
- Caquet T, Roucaute M, Mazzella N, Delmas F, Madigou C, Farcy E, Burgeot T, Allenou JP, Gabellec R. 2012. Risk assessment of herbicides and booster biocides along estuarine continuums in the Bay of Vilaine area (Brittany, France). *Environmental Science and Pollution Research*:1-16.
- Gonzalo E, Herrero-Hernández E, Sánchez-San Román FJ, Prado Flores MG. 2002. Determination of herbicides and metabolites by solid-phase extraction and liquid chromatography: Evaluation of pollution due to herbicides in surface and groundwaters. *Journal of Chromatography A* 950:157-166.

- Carabias-Martinez R, Rodriguez-Gonzalo E, Revilla-Ruiz P. 2004. Determination of weakly acidic endocrine-disrupting compounds by liquid chromatography-mass spectrometry with post-column base addition. *Journal of Chromatography A* 1056:131-138.
- Carro AM, Fernández S, Racamonde I, García-Rodríguez D, González P, Lorenzo RA. 2012. Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with programmed temperature vaporization-large volume injection-gas chromatography-tandem mass spectrometry for multiclass pesticides in water. *Journal of Chromatography A* 1253:134-143.
- Carson R. 1962. *Printemps Silencieux (Silent Spring)*, Wildproject ed.
- Catalina MI, Dallüge J, Vreuls RJJ, Brinkman UAT. 2000. Determination of chlorophenoxy acid herbicides in water by in situ esterification followed by in-vial liquid-liquid extraction combined with large-volume on-column injection and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 877:153-166.
- Charlestra L, Amirbahman A, Courtemanch DL, Alvarez DA, Patterson H. 2012. Estimating pesticide sampling rates by the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) in the presence of natural organic matter and varying hydrodynamic conditions. *Environmental Pollution* 169:98-104.
- Cherif S, Wortham H. 1997. A new laboratory protocol to monitor the volatilization of pesticides from soils. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 68:199-212.
- Chirita R-I, West C, Finaru A-L, Elfakir C. 2010. Approach to hydrophilic interaction chromatography column selection: Application to neurotransmitters analysis. *Journal of Chromatography A* 1217:3091-3104.
- Chirita R-I, West C, Zubrzycki S, Finaru A-L, Elfakir C. 2011. Investigations on the chromatographic behaviour of zwitterionic stationary phases used in hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Chromatography A* 1218:5939-5963.
- Clark GM, Goolsby DA. 2000. Occurrence and load of selected herbicides and metabolites in the lower Mississippi River. *Science of The Total Environment* 248:101-113.
- Clements WH, Rohr JR. 2009. Community responses to contaminants: using basic ecological principles to predict ecotoxicological effects. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28:1789-1800.
- Comoretto L, Arfib B, Chiron S. 2007. Pesticides in the Rhône river delta (France): Basic data for a field-based exposure assessment. *Science of The Total Environment* 380:124-132.
- Comoretto L, Arfib B, Talva R, Chauvelon P, Pichaud M, Chiron S, Höhener P. 2008. Runoff of pesticides from rice fields in the Ile de Camargue (Rhône river delta, France): Field study and modeling. *Environmental Pollution* 151:486-493.
- Comoretto L, Chiron S. 2005. Comparing pharmaceutical and pesticide loads into a small Mediterranean river. *Science of The Total Environment* 349:201-210.
- Corcoll N, Bonet B, Leira M, Guasch H. 2011. Chl-a fluorescence parameters as biomarkers of metal toxicity in fluvial biofilms: An experimental study. *Hydrobiologia* 673:119-136.
- Coste M, Boutry S, Tison-Rosebery J, Delmas F. 2009. Improvements of the Biological Diatom Index (BDI): Description and efficiency of the new version (BDI-2006). *Ecological Indicators* 9:621-650.
- Crescenzi C, Di Corcia A, Passariello G, Samperi R, Carou MIT. 1996. Evaluation of two new examples of graphitized carbon blacks for use in solid-phase extraction cartridges. *Journal of Chromatography A* 733:41-55.

- Crescenzi C, Dicorcia A, Marchese S, Samperi R. 1995. Determination of Acidic Pesticides in Water by a Benchtop Electrospray Liquid-Chromatography Mass-Spectrometer. *Analytical Chemistry* 67:1968-1975.
- Crespo A. 2009. PRÉSENCE ET SOURCES DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES DANS LE BASSIN D'ARCACHON. Thèse de Doctorat.
- Cresswell JE, Desneux N, vanEngelsdorp D. 2012. Dietary traces of neonicotinoid pesticides as a cause of population declines in honey bees: An evaluation by Hill's epidemiological criteria. *Pest Management Science* 68:819-827.
- Dabrowska D, Kot-Wasik A, Namiesnik J. 2006. Stability studies of selected phenoxyacid herbicides in water samples and determination of their transformation products. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 77:245-251.
- Dagens N. 2012. Les pratiques phytosanitaires agricoles sur le Bassin d'Arcachon. Réseau Pesticides Bassin d'Arcachon (REPAR).
- Dagnac T, Jeannot R, Mouvet C, Baran N. 2002. Determination of oxanilic and sulfonic acid metabolites of acetochlor in soils by liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 957:69-77.
- Dainat B, vanEngelsdorp D, Neumann P. 2012. Colony collapse disorder in Europe. *Environmental Microbiology Reports* 4:123-125.
- Dallet P, Labat L, Kummer E, Dubost JP. 2000. Determination of urea, allantoin and lysine pyroglutamate in cosmetic samples by hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 742:447-452.
- Daughton CG. 2004. Non-regulated water contaminants: emerging research. *Environmental Impact Assessment Review* 24:711-732.
- Davison W, Zhang H. 1994. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature* 367:546-548.
- de Person M, Hazotte A, Elfakir C, Lafosse M. 2005. Development and validation of a hydrophilic interaction chromatography-mass spectrometry assay for taurine and methionine in matrices rich in carbohydrates. *Journal of Chromatography A* 1081:174-181.
- De Wit R, Leibreich J, Vernier F, Delmas F, Beuffe H, Maison P, Chossat JC, Laplace-Treytore C, Laplana R, Clavé V, Torre M, Aubry I, Trut G, Maurer D, Capdeville P. 2005. Relationship between land-use in the agro-forestry system of les Landes, nitrogen loading to and risk of macro-algal blooming in the Bassin d'Arcachon coastal lagoon (SW France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 62:453-465.
- Décret n°2012-665. 2012. Décret no 2012-665 du 4 mai 2012 révisant et complétant les tableaux des maladies professionnelles en agriculture annexés au livre VII du code rural et de la pêche maritime.
- Desgranges N. 2010. Développement et validation de méthodes HPLC-MS/MS et GC/MS-MS permettant le dosage des pesticides contenus dans les POCIS et les sédiments. In. Bordeaux: Cemagref.
- Dias NC, Poole CF. 2002. Mechanistic study of the sorption properties of Oasis® HLB and its use in solid-phase extraction. *Chromatographia* 56:269-275.
- Dorigo U, Leboulanger C, Bérard A, Bouchez A, Humbert JF, Montuelle B. 2007. Lotic biofilm community structure and pesticide tolerance along a contamination gradient in a vineyard area. *Aquatic Microbial Ecology* 50:91-102.

- Duong TT, Morin S, Herlory O, Feurtet-Mazel A, Coste M, Boudou A. 2008. Seasonal effects of cadmium accumulation in periphytic diatom communities of freshwater biofilms. *Aquatic Toxicology* 90:19-28.
- El-Dib MA, Aly OA. 1976. Persistence of some phenylamide pesticides in the aquatic environment—I. Hydrolysis. *Water Research* 10:1047-1050.
- El-Kabbany S, Rashed MM, Zayed MA. 2000. Monitoring of the pesticide levels in some water supplies and agricultural land, in El-Haram, Giza (A.R.E.). *Journal of Hazardous Materials* 72:11-21.
- Elzen GW, Hardee DD. 2003. United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service research on managing insect resistance to insecticides. *Pest Management Science* 59:770-776.
- Escher BI, Quayle P, Muller R, Schreiber U, Mueller JF. 2006. Passive sampling of herbicides combined with effect analysis in algae using a novel high-throughput phytotoxicity assay (Maxi-Imaging-PAM). *Journal of Environmental Monitoring* 8:456-464.
- Esparza X, Moyano E, Galceran MT. 2009. Analysis of chlormequat and mepiquat by hydrophilic interaction chromatography coupled to tandem mass spectrometry in food samples. *Journal of Chromatography A* 1216:4402-4406.
- Faust M, Altenburger R, Backhaus T, Blanck H, Boedeker W, Gramatica P, Hamer V, Scholze M, Vighi M, Grimme LH. 2003. Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action. *Aquatic Toxicology* 63:43-63.
- Fauvelle V, Mazzella N, Delest B, Méchin B, Delmas F, Lissalde S, Budzinski H. 2011. Etalonnage et déploiement in situ d'échantillonneurs passifs de type POCIS afin de quantifier les pesticides dans les cours d'eau. In: XXXXème Congrès du Groupe Français des Pesticides.
- Fauvelle V, Mazzella N, Delmas F, Budzinski H. 2010. Comparison between classic reverse phase liquid chromatography and hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) for acidic pesticides analysis. In: 6th European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment and 12th Symposium on Chemistry and Fate of Modern Pesticides. Matera, Italy.
- Fedorova G, Golovko O, Randak T, Grabic R. 2012. Passive sampling of perfluorinated acids and sulfonates using polar organic chemical integrative samplers. *Environmental Science and Pollution Research* In press:DOI: 10.1007/s11356-11012-11003-11350.
- Fletcher J, Pfleeger T, Ratsch H. 1993. POTENTIAL ENVIRONMENTAL RISKS ASSOCIATED WITH THE NEW SULFONYLUREA HERBICIDES. U.S. EPA.
- Fontanals N, Marcé RM, Borrull F. 2007. New materials in sorptive extraction techniques for polar compounds. *Journal of Chromatography A* 1152:14-31.
- Freitas LG, Götz CW, Ruff M, Singer HP, Müller SR. 2004. Quantification of the new triketone herbicides, sulcotrione and mesotrione, and other important herbicides and metabolites, at the ng/l level in surface waters using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1028:277-286.
- Fung N, Ikesaki T. 1991. Determination of nine acidic herbicides in water and soil by gas chromatography using an electron-capture detector. *Journal of Chromatography A* 537:385-395.
- Gagnaire B, Gay M, Huvet A, Daniel J-Y, Saulnier D, Renault T. 2007. Combination of a pesticide exposure and a bacterial challenge: In vivo effects on immune response of Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquatic Toxicology* 84:92-102.

- Giacometti J, Milošević A, Milin Ce. 2002. Gas chromatographic determination of fatty acids contained in different lipid classes after their separation by solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A* 976:47-54.
- Gilbert G. 2010. Mise au point de methodologies de caractérisation quantitative et qualitative de biofilms phytobenthiques de cours d'eau, au service de l'évaluation d'impacts de pollutions agricoles trophiques ou toxiques. In: *Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix*.
- Gimpel J, Zhang H, Hutchinson W, Davison W. 2001. Effect of solution composition, flow and deployment time on the measurement of trace metals by the diffusive gradient in thin films technique. *Analytica Chimica Acta* 448:93-103.
- Gioia R, Offenberg JH, Gigliotti CL, Totten LA, Du S, Eisenreich SJ. 2005. Atmospheric concentrations and deposition of organochlorine pesticides in the US Mid-Atlantic region. *Atmospheric Environment* 39:2309-2322.
- Górecki T, Yu X, Pawliszyn J. 1999. Theory of analyte extraction by selected porous polymer SPME fibres. *Analyst* 124:643-649.
- Grébil G, Novak S, Perrin-Ganier C, Schiavon M. 2001. La dissipation des produits phytosanitaires appliqués au sol. *Ingénierie EAT*.
- Guillard R, Lorenzen C. 1972. Yellow-green algae with chlorophyllide c. *J. Phycol.* 8:10-14.
- Guo Y, Gaiki S. 2005. Retention behavior of small polar compounds on polar stationary phases in hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Chromatography A* 1074:71-80.
- Han B-C, Jeng W-L, Hung T-C, Ling Y-C, Shieh M-J, Chien L-C. 2000. Estimation of metal and organochlorine pesticide exposures and potential health threat by consumption of oysters in Taiwan. *Environmental Pollution* 109:147-156.
- Harman C, Allan IJ, Bäuerlein PS. 2011a. The challenge of exposure correction for polar passive samplers the PRC and the POCIS. *Environmental Science and Technology* 45:9120-9121.
- Harman C, Allan IJ, Vermeirssen ELM. 2012. Calibration and use of the polar organic chemical integrative sampler-a critical review. *Environ. Toxicol. Chem.*
- Harman C, Reid M, Thomas KV. 2011b. In situ calibration of a passive sampling device for selected illicit drugs and their metabolites in wastewater, and subsequent year-long assessment of community drug usage. *Environmental Science and Technology* 45:5676-5682.
- He H, Sun C, Wang X-R, Pham-Huy C, Chikhi-Chorfi N, Galons H, Thevenin M, Claude J-R, Warnet J-M. 2005. Solid-phase extraction of methadone enantiomers and benzodiazepines in biological fluids by two polymeric cartridges for liquid chromatographic analysis. *Journal of Chromatography B* 814:385-391.
- Heaton J, Gray N, Cowan DA, Plumb RS, Legido-Quigley C, Smith NW. 2011. Comparison of reversed-phase and hydrophilic interaction liquid chromatography for the separation of ephedrines. *Journal of Chromatography A*.
- Hemström P, Irgum K. 2006. Hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Separation Science* 29:1784-1821.
- Henry M, Béguin M, Requier F, Rollin O, Odoux JF, Aupinel P, Aptel J, Tchamitchian S, Decourtye A. 2012. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* 336:348-350.

- Hernando MD, Martínez-Bueno MJ, Fernández-Alba AR. 2005. Seawater quality control of microcontaminants in fish farm cage systems: Application of passive sampling devices. *Boletín - Instituto Español de Oceanografía* 21:37-46.
- Hill AV. 1910. The possible effects of the aggregation of the molecules of hæmoglobin on its dissociation curves. *J. Physiol.* 40: iv-vii.
- Hladik ML, Hsiao JJ, Roberts AL. 2005. Are neutral chloroacetamide herbicide degradates of potential environmental concern? Analysis and occurrence in the Upper Chesapeake Bay. *Environmental Science and Technology* 39:6561-6574.
- Hodgeson J, Collins J, Bashe W. 1994. Determination of acid herbicides in aqueous samples by liquid—solid disk extraction and capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A* 659:395-401.
- Hogenboom AC, Niessen WMA, Brinkman UAT. 1999. On-line solid-phase extraction-short-column liquid chromatography combined with various tandem mass spectrometric scanning strategies for the rapid study of transformation of pesticides in surface water. *Journal of Chromatography A* 841:33-44.
- Hoke SH, Brueggemann EE, Baxter LJ, Trybus T. 1986. Determination of phenoxy acid herbicides using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 357:429-432.
- Huckins JN, Manuweera GK, Petty JD, Mackay D, Lebo JA. 1993. Lipid-containing semipermeable membrane devices for monitoring organic contaminants in water. *Environmental Science and Technology* 27:2489-2496.
- Huckins JN, Petty JD, Lebo JA, Almeida FV, Booij K, Alvarez DA, Cranor WL, Clark RC, Mogensen BB. 2002. Development of the permeability/performance reference compound approach for in situ calibration of semipermeable membrane devices. *Environmental Science and Technology* 36:85-91.
- Huckins JN, Tubergen MW, Manuweera GK. 1990. Semipermeable membrane devices containing model lipid: A new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration potential. *Chemosphere* 20:533-552.
- Ineris. 2012. <http://www.ineris.fr/substances/fr/page/9>. In.
- Isaksson E, Hermanson M, Hicks S, Igarashi M, Kamiyama K, Moore J, Motoyama H, Muir D, Pohjola V, Vaikmäe R, van de Wal RSW, Watanabe O. 2003. Ice cores from Svalbard—useful archives of past climate and pollution history. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C* 28:1217-1228.
- Ivorra N, Barranguet C, Jonker M, Kraak MHS, Admiraal W. 2002. Metal-induced tolerance in the freshwater microbenthic diatom *Gomphonema parvulum*. *Environmental Pollution* 116:147-157.
- Jáuregui O, Galceran MT. 1997. Determination of phenols in water by on-line solid-phase disk extraction and liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytica Chimica Acta* 340:191-199.
- Junghans M, Backhaus T, Faust M, Scholze M, Grimme LH. 2003. Predictability of combined effects of eight chloroacetanilide herbicides on algal reproduction. *Pest Management Science* 59:1101-1110.
- Kalkhoff SJ, Kolpin DW, Thurman EM, Ferrer I, Barcelo D. 1998. Degradation of chloroacetanilide herbicides: The prevalence of sulfonic and oxanilic acid metabolites in Iowa groundwaters and surface waters. *Environmental Science and Technology* 32:1738-1740.

- Karlsson G, Winge S, Sandberg H. 2005. Separation of monosaccharides by hydrophilic interaction chromatography with evaporative light scattering detection. *Journal of Chromatography A* 1092:246-249.
- Kaserzon SL, Kennedy K, Hawker DW, Thompson J, Carter S, Roach AC, Booij K, Mueller JF. 2012. Development and calibration of a passive sampler for perfluorinated alkyl carboxylates and sulfonates in water. *Environmental Science and Technology* 46:4985-4993.
- Kebarle P, Tang L. 1993. From ions in solution to ions in the gas phase: The mechanism of electrospray mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 65:972A-986A.
- Kelly AG, Cruz I, Wells DE. 1993. Polychlorobiphenyls and persistent organochlorine pesticides in sea water at the pg 1–1 level. Sampling apparatus and analytical methodology. *Analytica Chimica Acta* 276:3-13.
- Kennedy K, Devlin M, Bentley C, Lee-Chue K, Paxman C, Carter S, Lewis SE, Brodie J, Guy E, Vardy S, Martin KC, Jones A, Packett R, Mueller JF. 2012. The influence of a season of extreme wet weather events on exposure of the World Heritage Area Great Barrier Reef to pesticides. *Marine Pollution Bulletin* 64:1495-1507.
- Kingston JK, Greenwood R, Mills GA, Morrison GM, Persson LB. 2000. Development of a novel passive sampling system for the time-averaged measurement of a range of organic pollutants in aquatic environments. *Journal of Environmental Monitoring* 2:487-495.
- Kjær J, Olsen P, Ullum M, Grant R. 2005. Leaching of glyphosate and amino-methylphosphonic acid from danish agricultural field sites. *Journal of Environmental Quality* 34:608-620.
- Klöppel H, Kördel W. 1997. Pesticide volatilization and exposure of terrestrial ecosystems. *Chemosphere* 35:1271-1289.
- Koppen B, Spliid NH. 1998. Determination of acidic herbicides using liquid chromatography with pneumatically assisted electrospray ionization mass spectrometric and tandem mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 803:157-168.
- Laganà A, Fago G, Marino A. 1998. Determination of aryloxyphenoxypropionic acid herbicides in water using different solid-phase extraction procedures and liquid chromatography–diode array detection. *Journal of Chromatography A* 796:309-318.
- Levanon D. 1993. Roles of fungi and bacteria in the mineralization of the pesticides atrazine, alachlor, malathion and carbofuran in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 25:1097-1105.
- Li H, Helm PA, Paterson G, Metcalfe CD. 2011. The effects of dissolved organic matter and pH on sampling rates for polar organic chemical integrative samplers (POCIS). *Chemosphere* 83:271-280.
- Li R, Zhang Y, Lee CC, Lu R, Huang Y. 2010. Development and validation of a hydrophilic interaction liquid chromatographic method for determination of aromatic amines in environmental water. *Journal of Chromatography A* 1217:1799-1805.
- Lin T, Li J, Xu Y, Liu X, Luo C, Cheng H, Chen Y, Zhang G. 2012. Organochlorine pesticides in seawater and the surrounding atmosphere of the marginal seas of China: Spatial distribution, sources and air–water exchange. *Science of The Total Environment* 435–436:244-252.
- Lipok J, Studnik H, Gruyaert S. 2010. The toxicity of Roundup® 360 SL formulation and its main constituents: Glyphosate and isopropylamine towards non-target water photoautotrophs. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73:1681-1688.

- Lissalde S. 2010. Application et validation des échantillonneurs passifs de type POCIS pour l'échantillonnage passif des pesticides dans les eaux du bassin versant charentais. In: Thèse de Doctorat: Université de Poitiers.
- Lissalde S, Mazzella N, Fauvelle V, Delmas F, Mazellier P, Legube B. 2011. Liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method for thirty-three pesticides in natural water and comparison of performance between classical solid phase extraction and passive sampling approaches. *Journal of Chromatography A* 1218:1492-1502.
- Liu M, Chen EX, Ji R, Semin D. 2008. Stability-indicating hydrophilic interaction liquid chromatography method for highly polar and basic compounds. *Journal of Chromatography A* 1188:255-263.
- Ma J, Lin F, Wang S, Xu L. 2003. Toxicity of 21 Herbicides to the Green Alga *Scenedesmus quadricauda*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 71:0594-0601.
- Manaud F, Maurer D, G. T, Auby I. 1994. Study of the Proliferation of the Green Seaweed in the Basin of Arcachon. Ifremer.
- Marchese S, Perret D, Gentili A, D'Ascenzo G, Faberi A. 2002. Determination of phenoxyacid herbicides and their phenolic metabolites in surface and drinking water. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 16:134-141.
- Martínez Bueno MJ, Hernando MD, Agüera A, Fernández-Alba AR. 2009. Application of passive sampling devices for screening of micro-pollutants in marine aquaculture using LC-MS/MS. *Talanta* 77:1518-1527.
- Masqué N, Marcé RM, Borrull F. 1998. New polymeric and other types of sorbents for solid-phase extraction of polar organic micropollutants from environmental water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 17:384-394.
- Mazzella N, Debenest T, Delmas F. 2008. Comparison between the polar organic chemical integrative sampler and the solid-phase extraction for estimating herbicide time-weighted average concentrations during a microcosm experiment. *Chemosphere* 73:545-550.
- Mazzella N, Delmas F, Delest B, Méchin B, Madigou C, Allenou JP, Gabellec R, Caquet T. 2009. Investigation of the matrix effects on a HPLC-ESI-MS/MS method and application for monitoring triazine, phenylurea and chloroacetanilide concentrations in fresh and estuarine waters. *Journal of Environmental Monitoring* 11:108-115.
- Mazzella N, Desgranges N. 2011. Analyse de pesticides dans les sédiments par chromatographie gazeuse et liquide couplées à la spectrométrie de masse en tandem. Fiche Aquaref.
- Mazzella N, Dubernet J-F, Delmas F. 2007. Determination of kinetic and equilibrium regimes in the operation of polar organic chemical integrative samplers: Application to the passive sampling of the polar herbicides in aquatic environments. *Journal of Chromatography A* 1154:42-51.
- Mazzella N, Lissalde S, Moreira S, Delmas F, Mazellier P, Huckins JN. 2010. Evaluation of the use of performance reference compounds in an oasis-HLB adsorbent based passive sampler for improving water concentration estimates of polar herbicides in freshwater. *Environmental Science and Technology* 44:1713-1719.
- Meeker JD, Barr DB, Hauser R. 2006. Thyroid hormones in relation to urinary metabolites of non-persistent insecticides in men of reproductive age. *Reproductive Toxicology* 22:437-442.

- Miège C, Schiavone S, Dabrin A, Coquery M, Mazzella N, Berho C, Ghestem JP, Togola A, Gonzalez C, Gonzalez JL, Lalere B, Lardy-Fontan S, Lepot B, Munaron D, Tixier C. 2012. An in situ intercomparison exercise on passive samplers for monitoring metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides in surface waters. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 36:128-143.
- Miossec L, Allain G, Arzul I, Francois C, Garcia C, Cameron A. 2009. First results of an epidemiological study on oyster (*Crassostrea gigas*) mortality events in France during summer 2008. *International Symposia on Veterinary Epidemiology and Economics:Durban, South Africa*.
- Mitchell CR, Bao Y, Benz NJ, Zhang S. 2009. Comparison of the sensitivity of evaporative universal detectors and LC/MS in the HILIC and the reversed-phase HPLC modes. *Journal of Chromatography B* 877:4133-4139.
- Mora L, Sentandreu MÁ, Toldrá F. 2008. Contents of creatine, creatinine and carnosine in porcine muscles of different metabolic types. *Meat Science* 79:709-715.
- Moreby SJ, Southway SE. 1999. Influence of autumn applied herbicides on summer and autumn food available to birds in winter wheat fields in southern England. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 72:285-297.
- Moret S, Sanchez JM, Salvado V, Hidalgo M. 2005. The evaluation of different sorbents for the preconcentration of phenoxyacetic acid herbicides and their metabolites from soils. *Journal of Chromatography A* 1099:55-63.
- Morin N, Miège C, Coquery M, Randon J. 2012a. Chemical calibration, performance, validation and applications of the polar organic chemical integrative sampler (POCIS) in aquatic environments. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 36:144-175.
- Morin S, Pesce S, Kim-Tiam S, Libert X, Coquery M, Mazzella N. 2012b. Use of polar organic chemical integrative samplers to assess the effects of chronic pesticide exposure on biofilms. *Ecotoxicology*:1-11.
- Morin S, Pesce S, Tlili A, Coste M, Montuelle B. 2010. Recovery potential of periphytic communities in a river impacted by a vineyard watershed. *Ecological Indicators* 10:419-426.
- Müller JF, Manomanii K, Mortimer MR, McLachlan MS. 2001. Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons in the polyethylene/water system. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 371:816-822.
- Müller JF, Manomanii K, Mortimer MR, McLachlan MS. 2001. Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons in the polyethylene/water system. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 371:816-822.
- Munaron D. 2004. Etude des apports en herbicides et en nutriments par la Charente: modélisation de la dispersion de l'atrazine dans le Bassin de Marennes-Oléron. In: Paris VI. Paris: Université Pierre et Marie Curie.
- Munaron D, Tapie N, Budzinski H, Andral B, Gonzalez JL. 2012. Pharmaceuticals, alkylphenols and pesticides in Mediterranean coastal waters: Results from a pilot survey using passive samplers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
- Nguyen HP, Schug KA. 2008. The advantages of ESI-MS detection in conjunction with HILIC mode separations: Fundamentals and applications. *Journal of Separation Science* 31:1465-1480.
- Nolte J, Groß B, Heimlich F, Klockow D. 1997. Direct methylation at the surface of Carbo-pack B. Part I: Determination of phenolic pesticides. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 357:763-767.

- Nouri B, Fouillet B, Toussaint G, Chambon P, Chambon R. 1995. High-performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of pesticides in water using automated solid-phase extraction. *The Analyst* 120:1133-1136.
- Ochoa V, Riva C, Faria M, de Alda ML, Barceló D, Fernandez Tejedor M, Roque A, Barata C. 2012. Are pesticide residues associated to rice production affecting oyster production in Delta del Ebro, NE Spain? *Science of The Total Environment* 437:209-218.
- Öllers S, Singer HP, Fässler P, Müller SR. 2001. Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water. *Journal of Chromatography A* 911:225-234.
- Ort C, Lawrence MG, Rieckermann J, Joss A. 2010. Sampling for pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and illicit drugs in wastewater systems: Are your conclusions valid? A critical review. *Environmental Science and Technology* 44:6024-6035.
- Palma G, Sánchez A, Olave Y, Encina F, Palma R, Barra R. 2004. Pesticide levels in surface waters in an agricultural–forestry basin in Southern Chile. *Chemosphere* 57:763-770.
- Palmes ED, Gunnison AF. 1973. Personal monitoring device for gaseous contaminants. *American Industrial Hygiene Association Journal* 34:78-81.
- Panther JG, Teasdale PR, Bennett WW, Welsh DT, Zhao H. 2011. Comparing dissolved reactive phosphorus measured by DGT with ferrihydrite and titanium dioxide adsorbents: Anionic interferences, adsorbent capacity and deployment time. *Analytica Chimica Acta* 698:20-26.
- Paschke A, Schwab K, Brümmer J, Schüürmann G, Paschke H, Popp P. 2006. Rapid semi-continuous calibration and field test of membrane-enclosed silicone collector as passive water sampler. *Journal of Chromatography A* 1124:187-195.
- Peñuela GA, Barceló D. 2000. Comparative Photodegradation Study of Atrazine and Desethylatrazine in Water Samples Containing Titanium Dioxide/Hydrogen Peroxide and Ferric Chloride/Hydrogen Peroxide. *Journal of AOAC International* 83:53-60.
- Pérez-Carrera E, León VML, Parra AG, González-Mazo E. 2007. Simultaneous determination of pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in seawater and interstitial marine water samples, using stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1170:82-90.
- Pesce S, Lissalde S, Lavieille D, Margoum C, Mazzella N, Roubex V, Montuelle B. 2010. Evaluation of single and joint toxic effects of diuron and its main metabolites on natural phototrophic biofilms using a pollution-induced community tolerance (PICT) approach. *Aquatic Toxicology* 99:492-499.
- Pesce S, Morin S, Lissalde S, Montuelle B, Mazzella N. 2011. Combining polar organic chemical integrative samplers (POCIS) with toxicity testing to evaluate pesticide mixture effects on natural phototrophic biofilms. *Environmental Pollution* 159:735-741.
- Petty JD, Huckins JN, Alvarez DA, Brumbaugh WG, Cranor WL, Gale RW, Rastall AC, Jones-Lepp TL, Leiker TJ, Rostad CE, Furlong ET. 2004. A holistic passive integrative sampling approach for assessing the presence and potential impacts of waterborne environmental contaminants. *Chemosphere* 54:695-705.
- Petty JD, Orazio CE, Huckins JN, Gale RW, Lebo JA, Meadows JC, Echols KR, Cranor WL. 2000. Considerations involved with the use of semipermeable membrane devices for monitoring environmental contaminants. *Journal of Chromatography A* 879:83-95.

- Pichon V, Cau Dit Coumes C, Chen L, Guenu S, Hennion MC. 1996. Simple removal of humic and fulvic acid interferences using polymeric sorbents for the simultaneous solid-phase extraction of polar acidic, neutral and basic pesticides. *Journal of Chromatography A* 737:25-33.
- Plus M, Dalloyau S, Trut G, Auby I, de Montaudouin X, Emery É, Noël C, Viala C. 2010. Long-term evolution (1988–2008) of *Zostera* spp. meadows in Arcachon Bay (Bay of Biscay). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 87:357-366.
- Plus M, Durand N. 2004. Le modèle hydrodynamique du Bassin d'Arcachon, description générale et validation. Rapport interne Ifremer.
- Plus M, Maurer D, Stanisière J-Y, Dumas F. 2006. Caractérisation des composantes hydrodynamiques d'une lagune mésotidale, le Bassin d'Arcachon. Ifremer.
- Postle JK, Rheineck BD, Allen PE, Baldock JO, Cook CJ, Zogbaum R, Vandenberg JP. 2004. Chloroacetanilide herbicide metabolites in Wisconsin groundwater: 2101 Survey results. *Environmental Science and Technology* 38:5339-5343.
- Prosser P, Hart ADM. 2005. Assessing potential exposure of birds to pesticide-treated seeds. *Ecotoxicology* 14:679-691.
- Prygiel J, Rosso-Darmet A, Lafont M, Lesniak C, Durbec A, Ouddane B. 1999. Use of oligochaete communities for assessment of ecotoxicological risk in fine sediment of rivers and canals of the Artois-Picardie water basin (France). *Hydrobiologia* 410:25-37.
- Qin F, Zhao YY, Sawyer MB, Li X-F. 2008. Column-switching reversed phase–hydrophilic interaction liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for determination of free estrogens and their conjugates in river water. *Analytica Chimica Acta* 627:91-98.
- Quintana JB, Rodil R, Muniategui-Lorenzo S, López-Mahía P, Prada-Rodríguez D. 2007. Multiresidue analysis of acidic and polar organic contaminants in water samples by stir-bar sorptive extraction–liquid desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1174:27-39.
- Rafferty J, Zhang L, Siepmann J, Schure M. 2007. Retention Mechanism in Reversed-Phase Liquid Chromatography: A Molecular Perspective. *Anal. Chem.* 79:6551-6558.
- Raina R, Etter ML. 2010. Liquid Chromatography with Post-Column Reagent Addition of Ammonia in Methanol Coupled to Negative Ion Electrospray Ionization tandem Mass Spectrometry for Determination of Phenoxyacid Herbicides and their Degradation Products in Surface Water. *Analytical chemistry Insights* 5.
- Rapport Ascobar. 2009. Apports scientifiques face à la problématique conchylicole du Bassin d'Arcachon, étude des pesticides.
- Rawn DFK, Lockhart WL, Wilkinson P, Savoie DA, Rosenberg GB, Muir DCG. 2001. Historical contamination of Yukon Lake sediments by PCBs and organochlorine pesticides: influence of local sources and watershed characteristics. *Science of The Total Environment* 280:17-37.
- Readman JW, Albanis TA, Barcelo D, Galassi S, Tronczynski J, Gabrielides GP. 1993. Herbicide contamination of Mediterranean estuarine waters: Results from a MED POL pilot survey. *Marine Pollution Bulletin* 26:613-619.
- Reiszner KD, West PW. 1973. Collection and determination of sulfur dioxide incorporating permeation and West-Gaeke procedure. *Environmental Science and Technology* 7:526-532.

- Ricart M, Barceló D, Geiszinger A, Guasch H, Alda MLd, Romaní AM, Vidal G, Villagrassa M, Sabater S. 2009. Effects of low concentrations of the phenylurea herbicide diuron on biofilm algae and bacteria. *Chemosphere* 76:1392-1401.
- Ricart Viladomat M. 2010. Effects of priority and emerging pollutants on river biofilms. Ph.D. Thesis Universitat de Girona.
- Rimmelin P, Dumon JC, Maneux E, Gonçaves A. 1998. Study of Annual and Seasonal Dissolved Inorganic Nitrogen Inputs into the Arcachon Lagoon, Atlantic Coast (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 47:649-659.
- Rodil R, Quintana JB, López-Mahía P, Muniategui-Lorenzo S, Prada-Rodríguez D. 2009. Multi-residue analytical method for the determination of emerging pollutants in water by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216:2958-2969.
- Rosen AA, Middleton FM. 1959. Chlorinated Insecticides in Surface Waters. *Analytical Chemistry* 31:1729-1732.
- Rotter S, Sans-Piché F, Streck G, Altenburger R, Schmitt-Jansen M. 2011. Active bio-monitoring of contamination in aquatic systems-An in situ translocation experiment applying the PICT concept. *Aquatic Toxicology* 101:228-236.
- Roubeix V, Fauvelle V, Tison-Rosebery J, Mazzella N, Coste M, Delmas F. 2012. Assessing the impact of chloroacetanilide herbicides and their metabolites on periphyton in the Leyre River (SW France) via short term growth inhibition tests on autochthonous diatoms. *Journal of Environmental Monitoring* 14:1655-1663.
- Roubeix V, Mazzella N, Méchin B, Coste M, Delmas F. 2011a. Impact of the herbicide metolachlor on river periphytic diatoms:experimental comparison of descriptors at different biological organization levels. *Ann. Limnol.* 47:239-249.
- Roubeix V, Mazzella N, Schouler L, Fauvelle V, Morin S, Coste M, Delmas F, Margoum C. 2011b. Variations of periphytic diatom sensitivity to the herbicide diuron and relation to species distribution in a contamination gradient: Implications for biomonitoring. *Journal of Environmental Monitoring* 13:1768-1774.
- Roubeix V, Pesce S, Mazzella N, Coste M, Delmas F. in press. *Fres. Environ. Bull.*
- Rouvalis A, Karadima C, Zioris IV, Sakkas VA, Albanis T, Iliopoulou-Georgudaki J. 2009. Determination of pesticides and toxic potency of rainwater samples in western Greece. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72:828-833.
- Rusina TP, Smedes F, Klanova J, Booij K, Holoubek I. 2007. Polymer selection for passive sampling: A comparison of critical properties. *Chemosphere* 68:1344-1351.
- Rusina TP, Smedes F, Koblizkova M, Klanova J. 2010. Calibration of silicone rubber passive samplers: Experimental and modeled relations between sampling rate and compound properties. *Environmental Science and Technology* 44:362-367.
- Sabater S, Guasch H, Ricart M, Romaní A, Vidal G, Klünder C, Schmitt-Jansen M. 2007. Monitoring the effect of chemicals on biological communities. the biofilm as an interface. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387:1425-1434.
- Samanidou VF, Nikolaidou KI, Papadoyannis IN. 2005. Development and validation of an HPLC confirmatory method for the determination of tetracycline antibiotics residues in bovine muscle according to the European Union regulation 2002/657/EC. *Journal of Separation Science* 28:2247-2258.

- Sankararamkrishnan N, Kumar Sharma A, Sanghi R. 2005. Organochlorine and organophosphorous pesticide residues in ground water and surface waters of Kanpur, Uttar Pradesh, India. *Environment International* 31:113-120.
- Sapota G. 2004. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCPs) in seawater of the Southern Baltic Sea. *Desalination* 162:153-157.
- Seethapathy S, Górecki T, Li X. 2008. Passive sampling in environmental analysis. *Journal of Chromatography A* 1184:234-253.
- Shaw M, Eaglesham G, Mueller JF. 2009a. Uptake and release of polar compounds in SDB-RPS Empore™ disks; implications for their use as passive samplers. *Chemosphere* 75:1-7.
- Shaw M, Negri A, Fabricius K, Mueller JF. 2009b. Predicting water toxicity: Pairing passive sampling with bioassays on the Great Barrier Reef. *Aquatic Toxicology* 95:108-116.
- Silva E, Rajapakse N, Kortenkamp A. 2002. Something from "nothing" - Eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. *Environmental Science and Technology* 36:1751-1756.
- Smedes F. 2007. Chapter 19 Monitoring of chlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons by passive sampling in concert with deployed mussels. In: Greenwood R, Mills G, Vrana B, editors. *Comprehensive Analytical Chemistry*: Elsevier. p 407-448.
- SOeS. 2011. Bilan de présence des micropolluants dans les milieux aquatiques continentaux, période 2007-2009. *Commisariat du développement durable*.
- Soletchnik P, Ropert M, Mazurié J, Gildas Fleury P, Le Coz F. 2007. Relationships between oyster mortality patterns and environmental data from monitoring databases along the coasts of France. *Aquaculture* 271:384-400.
- Steen R, Hogenboom AC, Leonards PEG, Peerboom RAL, Cofino WP, Brinkman UAT. 1999. Ultra-trace-level determination of polar pesticides and their transformation products in surface and estuarine water samples using column liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 857:157-166.
- Swineford DM, Belisle AA. 1989. Analysis of trifluralin, methyl paraoxon, methyl parathion, fenvalerate and 2,4-D dimethylamine in pond water using solid-phase extraction. *Environmental Toxicology and Chemistry* 8:465-468.
- Takamura N, Kasai F, Watanabe MM. 1989. Effects of Cu, Cd and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae. *Journal of Applied Phycology* 1:39-52.
- Taylor PJ. 2005. Matrix effects: the Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Clinical Biochemistry* 38:328-334.
- Thompson TS, Miller BD. 1998. Use of solid phase extraction disks for the GC-MS analysis of acidic and neutral herbicides in drinking water. *Chemosphere* 36:2867-2878.
- Tlili A, Montuelle B, Bérard A, Bouchez A. 2011. Impact of chronic and acute pesticide exposures on periphyton communities. *Science of The Total Environment* 409:2102-2113.
- Togola A, Budzinski H. 2007. Development of Polar Organic Integrative Samplers for Analysis of Pharmaceuticals in Aquatic Systems. *Anal. Chem.* 79:6734-6741.
- Tortajada S, Niquil N, Blanchet H, Grami B, Montanié H, David V, Glé C, Saint-Béat B, Johnson GA, Marquis E, Del Amo Y, Dubois S, Vincent D, Dupuy C, Jude F, Hartmann HJ, Sautour B. 2012. Network analysis of the planktonic food web during the spring bloom in a semi enclosed lagoon (Arcachon, SW France). *Acta Oecologica* 40:40-50.

- Tran-Thi N-T, Mazzella N, Delest B. 2009. Analyse HPLC-ESI-MS/MS du glyphosate et de l'AMPA dans les eaux de surface (phase dissoute). Fiche Aquaref.
- Tran ATK, Hyne RV, Doble P. 2007. Determination of commonly used polar herbicides in agricultural drainage waters in Australia by HPLC. *Chemosphere* 67:944-953.
- Tron I, Piquet O, Cohuet S. 2001. Effets chroniques des pesticides sur la santé: état actuel des connaissances. Observatoire Régional de Santé de Bretagne.
- Uher E, Zhang H, Santos S, Tusseau-Vuillemin MH, Gourlay-Francé C. 2012. Impact of biofouling on diffusive gradient in thin film measurements in water. *Analytical Chemistry* 84:3111-3118.
- vanEngelsdorp D, Meixner MD. 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology* 103, Supplement:S80-S95.
- Vaughn KC. 2003. Herbicide resistance work in the United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service. *Pest Management Science* 59:764-769.
- Vermeirssen ELM, Asmin J, Escher BI, Kwon JH, Steimen I, Hollender J. 2008. The role of hydrodynamics, matrix and sampling duration in passive sampling of polar compounds with Empore™ SDB-RPS disks. *Journal of Environmental Monitoring* 10:119-128.
- Vermeirssen ELM, Bramaz N, Hollender J, Singer H, Escher BI. 2009. Passive sampling combined with ecotoxicological and chemical analysis of pharmaceuticals and biocides – evaluation of three Chemcatcher™ configurations. *Water Research* 43:903-914.
- Vermeirssen ELM, Dietschweiler C, Escher BI, Van Der Voet J, Hollender J. 2012. Transfer kinetics of polar organic compounds over polyethersulfone membranes in the passive samplers pocis and chemcatcher. *Environmental Science and Technology* 46:6759-6766.
- Vikingsson S, Kronstrand R, Josefsson M. 2008. Retention of opioids and their glucuronides on a combined zwitterion and hydrophilic interaction stationary phase. *Journal of Chromatography A* 1187:46-52.
- Vrana B, Allan IJ, Greenwood R, Mills GA, Dominiak E, Svensson K, Knutsson J, Morrison G. 2005. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 24:845-868.
- Wade KL, Garrard IJ, Fahey JW. 2007. Improved hydrophilic interaction chromatography method for the identification and quantification of glucosinolates. *Journal of Chromatography A* 1154:469-472.
- Wang W-K, Huang S-D. 1989. Rapid determination of seven herbicides in water or isooctane using C18 and florisil sep-pak cartridges and gas chromatography with electron-capture detection. *Journal of Chromatography A* 483:121-129.
- Watanabe T. 1998. Determination of the concentration of pesticides in atmosphere at high altitudes after aerial application. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 60:669-676.
- Wells MJ, Michael JL. 1987. Recovery of picloram and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid from aqueous samples by reversed-phase solid-phase extraction. *Analytical Chemistry* 59:1739-1742.
- Wells MJM, Yu LZ. 2000. Solid-phase extraction of acidic herbicides. *Journal of Chromatography A* 885:237-250.

Bibliographie

- Wilson JD, Morris AJ, Arroyo BE, Clark SC, Bradbury RB. 1999. A review of the abundance and diversity of invertebrate and plant foods of granivorous birds in northern Europe in relation to agricultural change. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 75:13-30.
- Wittmer IK, Bader HP, Scheidegger R, Singer H, Lück A, Hanke I, Carlsson C, Stamm C. 2010. Significance of urban and agricultural land use for biocide and pesticide dynamics in surface waters. *Water Research* 44:2850-2862.
- Xing B, Pignatello JJ. 1997. Dual-mode sorption of low-polarity compounds in glassy poly(vinyl chloride) and soil organic matter. *Environmental Science and Technology* 31:792-799.
- Xing B, Pignatello JJ, Gigliotti B. 1996. Competitive sorption between atrazine and other organic compounds in soils and model sorbents. *Environmental Science and Technology* 30:2432-2440.
- Yoshida T. 2004. Peptide separation by Hydrophilic-Interaction Chromatography: a review. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 60:265-280.
- Yoshioka N, Asano M, Kuse A, Mitsuhashi T, Nagasaki Y, Ueno Y. 2011. Rapid determination of glyphosate, glufosinate, bialaphos, and their major metabolites in serum by liquid chromatography–tandem mass spectrometry using hydrophilic interaction chromatography. *Journal of Chromatography A* 1218:3675-3680.
- Zhang H, Davison W. 1995. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. *Analytical Chemistry* 67:3391-3400.
- Zhou JL, Fileman TW, House WA, Long JLA, Mantoura RFC, Meharg AA, Osborn D, Wright J. 1999. Fluxes of Organic Contaminants from the River Catchment into, through and out of the Humber Estuary, UK. *Marine Pollution Bulletin* 37:330-342.

Annexes

Liste des annexes

Annexe 1. Préparation et conservation des solutions	225
Annexe 2. Protocole d'extraction en phase solide de 44 pesticides neutres pour analyse LC et GC .	227
Annexe 3. Protocole d'extraction en phase solide de 19 herbicides anioniques dans l'eau pour analyse LC	228
Annexe 4. Protocole d'extraction en phase solide du glyphosate et de l'AMPA dans l'eau pour analyse LC	229
Annexe 5. Extraction de 44 pesticides neutres dans les sédiments pour analyse LC et GC.....	230
Annexe 6. Analyse de 33 pesticides neutres par RPLC-ESI-MS ²	231
Annexe 7. Analyse de 19 herbicides acides par HILIC-ESI-MS ²	233
Annexe 8. Analyse du glyphosate et de l'AMPA par RPLC-ESI-MS ²	234
Annexe 9. Analyse des composés hydrophobes par GC-MS ²	235
Annexe 10. Dopage de la phase réceptrice avec les composés de performance et de référence choisis (PRC)	237
Annexe 11. Préparation et récupération des échantillonneurs passifs	238
Annexe 12. Elution de la phase réceptrice des échantillonneurs passifs.....	239
Annexe 13. Principes des Systèmes de calibration	240
Annexe 14. Supporting Informations of "Optimization of Polar organic chemical integrative sampler and Diffusive gradient in thin-film for the sampling of organic acids"	241
Annexe 15. Supporting Informations of "Use of mixed-mode anion exchange sorbent for the passive sampling of organic acids by polar organic chemical integrative sampler"	243
Annexe 16. Contamination de la Craste de Nézer	247
Annexe 17. Contamination du canal des landes	248
Annexe 18. Contamination du ruisseau du Bourg.....	249
Annexe 19. Contamination De la Leyre	250
Annexe 20. Contamination du ruisseau du Pontails	251
Annexe 21. Contamination du Lanton.....	252
Annexe 22. Contamination du Bétey	253
Annexe 23. Contamination du Cirès.....	254
Annexe 24. Contamination du canal des étangs	255
Annexe 25. Valorisations.....	256

Liste des tableaux

Tableau 5. Paramètre de masse de 33 pesticides neutres hydrophiles.....	231
Tableau 6. Gradient d'élution RPLC pour la séparation de 33 pesticides neutres hydrophiles.....	232
Tableau 7. Paramètres de masse de 19 herbicides acides.....	233
Tableau 8. Gradient d'élution HILIC pour la séparation de 19 herbicides acides.....	233
Tableau 9. Paramètres de masse du glyphosate et de l'AMPA dérivés.....	234
Tableau 10. Gradient d'élution RPLC pour la séparation du glyphosate-FMOC et de l'AMPA-FMOC	234
Tableau 11. Préparation de la gamme extraite pour l'étalonnage du glyphosate-FMOC et de l'AMPA-FMOC.....	234
Tableau 12. Paramètres de masse de 13 pesticides neutres hydrophobes.....	235
Tableau 13. Rampe de température pour la séparation de 13 pesticides neutres hydrophobes par GC.....	235
Tableau 14. Mass parameters optimized for acidic herbicides.....	246

Liste des figures

Figure 51. Schéma d'un système de calibration fermé.....	240
Figure 52. Schéma d'un système de calibration ouvert.....	240
Figure 53. Q-plot and residuals of the monophasic and biphasic models (2,4-D, P-200, n=3).....	241
Figure 54. Evolution of the POCIS exposure surface area as a function of the mass of sorbent (n=3). Area on mass ratio associated values. Bars represent the standard deviation.....	242
Figure 55. Membrane area in contact with the Oasis HLB receiving phase for POCIS containing 200, 400 and 600 mg of sorbent.....	242
Figure 56. Molecular structure of anionic herbicides (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/ and santa cruz biotechnology, inc.).....	243
Figure 57. Molecular structure of neutral pesticides (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/ and santa cruz biotechnology, inc.).....	244
Figure 58. Backbone and functional groups of the Oasis HLB and MAX sorbents (Waters).....	245
Figure 59. Static renewal calibration system.....	245

ANNEXE 1. PREPARATION ET CONSERVATION DES SOLUTIONS

Solutions pour l'analyse de tous les pesticides hors glyphosate et AMPA

Généralités :

On utilise des récipients en verre, et on conserve les solutions pendant 6 mois au congélateur à -18 °C.

SM (Solutions Mères monomoléculaires 100 µg.mL⁻¹) :

Peser 10 mg du composé désiré dans une fiole de 100 mL, compléter avec un solvant organique (ACN, MeOH).

SF (Solutions Filles 1 µg.mL⁻¹) :

Prélever 250 µL de la solution mère de chaque pesticide d'intérêt dans une fiole de 25 mL. Compléter avec un solvant organique (ACN, MeOH).

IS HILIC (solution d'étalons internes pour l'analyse des herbicides anioniques) :

Prélever 250 µL de SM de metsulfuron-d3, MCPA-d3 et bentazone-d6 dans une fiole de 25 mL. Compléter avec un solvant organique (ACN, MeOH).

IS C18 (solution d'étalons internes pour l'analyse des pesticides neutres par LC) :

Dans un vial de 1,5 mL, mélanger 100 µL de 7 composés à 100 µg.mL⁻¹ (atrazine-d5, carbaryl-d3, carbofuran-d3, dea-d6, diuron-d6, methomyl-d3, métolachlore-d6) et 300 µL de chlorpyriphos-d10.

IS GC (solution d'étalons internes pour l'analyse des pesticides neutres par GC) :

Dans un vial de 1,5 mL, mélanger 100 µL de 2 composés à 100 µg.mL⁻¹ (atrazine-d5, tébuconazole-d6) avec 800 µL d'EA.

Surrogates HILIC (solution de surrogates pour contrôler l'analyse des herbicides anioniques) :

Prélever 250 µL de SM de dicamba-d3 dans une fiole de 25 mL et compléter avec un solvant organique (ACN, MeOH).

Surrogates C18 (solution de surrogates pour contrôler l'analyse des pesticides neutres) :

Prélever 250 µL de SM de monuron-d6, prométryn-d6 et simazine-d5 dans une fiole de 25 mL et compléter avec un solvant organique (ACN, MeOH).

Solutions pour l'analyse du glyphosate et de l'AMPA

Généralités

Pour les solutions pesticides, on utilise des récipients en plastique (polypropylène, polyéthylène), et on les conserve au congélateur à -18 °C.

SM (Solutions Mères monomoléculaires 100 µg.mL⁻¹)

Peser 5 mg du composé désiré dans une fiole de 100 mL, compléter avec de l'UPW. Ces solutions sont à renouveler chaque année.

SF (Solutions Filles 1 µg.mL⁻¹)

Prélever 250 µL de SM du composé d'intérêt dans une fiole de 25 mL, et compléter avec de l'UPW. Ces solutions sont à renouveler tous les six mois.

ST (Solutions de Travail à 10 ng.mL⁻¹ pour les composés non marqués)

Prélever 250 µL de SF du composé d'intérêt dans une fiole de 25 mL, et compléter avec de l'UPW. Ces solutions sont à renouveler tous les trois mois.

ST (Solutions de Travail à 20 ng.mL⁻¹ pour les composés marqués)

Prélever 500 µL de SF du composé d'intérêt dans une fiole de 25 mL, et compléter avec de l'UPW. Ces solutions sont à renouveler tous les trois mois.

Réactifs

Borate-Na 50 mM : diluer 4,766 g de borate de sodium dans 250 mL d'UPW (dissolution lente, conservation 6 mois au frigo).

EDTA-Na 0,1 M : diluer 1,86 g d'EDTA-Na dans 50 mL d'UPW (dissolution lente, conservation 6 mois au frigo).

FMOC-Cl 50 mg.mL⁻¹ : diluer 5 g de FMOC-Cl dans 100 mL d'ACN (conservation 2,5 mois au congélateur).

HCOOH 5 % : diluer 0,5 mL d'acide formique dans 10 mL d'UPW.

HCOOH 0,1 % : diluer 200 µL d'acide formique dans 200 mL d'UPW.

NH₄OH 2 %/MeOH 30:70 (v/v) : diluer 600 µL d'ammoniaque à 25 % dans 9 mL d'UPW, puis ajouter 21 mL de MeOH.

ANNEXE 2. PROTOCOLE D'EXTRACTION EN PHASE SOLIDE DE 44 PESTICIDES NEUTRES POUR ANALYSE LC ET GC

Les protocoles de préparation des solutions (termes soulignés) sont détaillés en Annexe 1.

Prélèvement

Prélever 500 mL d'eau dans un flacon en verre.
Conserver à 4 °C

Traitement de l'échantillon

Filtrer environ 200 mL d'eau de rivière sous vide avec des filtres GF/F (0,7 µm).
Ajuster le pH du filtrat à 7.
Remplir des fioles jaugées de 100 mL et ajouter 10 µL de solution surrogates C18, agiter.

Contrôle qualité

Préparer un blanc (Evian) et 2 eaux dopées (Evian également sauf si dopages dans la matrice spécifiée) à 0,04 ppb (4 µL de SF des 47 herbicides neutres) et à 0,20 ppb (20 µL de SF des 47 herbicides neutres), ajouter 10 µL de solution surrogates C18 au blanc et aux eaux dopées.

Préparation de l'extraction

Placer les cartouches SPE Chromabond HR-X (3 cc, 60 mg, 85,4 µm, Machery-Nagel) sur le module d'extraction (visiprep) et ajouter des réservoirs de 200 mL au dessus de chaque cartouche.

Conditionnement des cartouches

Rincer les cartouches avec 5 mL de méthanol puis 5 mL d'UPW.

Percolation de l'échantillon

Faire percoler les 100 mL d'échantillon à travers la cartouche (débit 5 à 10 mL.min⁻¹).

Rinçage de l'adsorbant

Rincer l'adsorbant avec 5 mL d'UPW/MeOH 85:15 (v/v).
Sécher sous un courant d'azote pendant 30 minutes.
Les cartouches peuvent être stockées à -18 °C jusqu'à l'étape d'élution.

Elution

Eluer les cartouches avec 3 mL de MeOH puis 3 mL de MeOH/EA 75:25 (v/v) dans des tubes en verre gradués de 15 mL.
Ajuster le volume de l'éluat à 6 mL.
Evaporer séparément [3 mL + 5 µL d'IS C18] et [3 mL d'éluat + 10 µL d'octanol + 5 µL d'IS GC]
Reprendre les tubes avec 500 µL d'UPW/ACN 90:10 (v/v) (LC) ou 500 µL d'EA (GC).
Transférer en vial.

ANNEXE 3. PROTOCOLE D'EXTRACTION EN PHASE SOLIDE DE 19 HERBICIDES ANIONIQUES DANS L'EAU POUR ANALYSE LC

Les protocoles de préparation des solutions (termes soulignés) sont détaillés en Annexe 1.

Prélèvement

Prélever 500 mL d'eau dans un flacon en plastique (polypropylène ou polyéthylène).
Conserver au frigo.

Traitement de l'échantillon

Filtrer environ 500 mL d'eau de rivière sous vide avec des filtres GF/F (0,7 µm).
Ajuster le pH du filtrat à 5.
Remplir des fioles jaugées de 200 mL et ajouter 100 µL de la solution surrogates HILIC, agiter.

Contrôle qualité

Préparer un blanc (Evian) et 2 eaux dopées (Evian également sauf si dopages dans la matrice spécifiée) à 0,02 ppb (4 µL de SF des 19 herbicides acides) et à 0,20 ppb (40 µL de SF des 19 herbicides acides), ajouter 100 µL de solution surrogate HILIC au blanc et aux eaux dopées.

Préparation de l'extraction

Placer les cartouches SPE Oasis HLB (6 cc, 150 mg, 30 µm, Waters) sur le module d'extraction (visiprep) et ajouter des réservoirs de 200 mL au dessus de chaque cartouche.

Conditionnement des cartouches

Rincer les cartouches avec 3 mL de méthanol puis 3 mL d'UPW.

Percolation de l'échantillon

Faire percoler les 200 mL d'échantillon à travers la cartouche (débit 10 à 20 mL.min⁻¹).

Rinçage de l'adsorbant

Rincer l'adsorbant avec 5 mL d'UPW/MeOH 70:30 (v/v),
Sécher sous un courant d'azote pendant 30 minutes.
Les cartouches peuvent être stockées à -18 °C jusqu'à l'étape d'élution.

Elution

Eluer les cartouches avec 5 mL de MeOH.
Ajouter 60 µL d'IS HILIC.
Evaporer à sec sous flux d'azote.
Reprendre les tubes avec 150 µL d'UPW, agiter, puis 2850 µL d'ACN et agiter.
Transférer 1000 µL en vial.

ANNEXE 4. PROTOCOLE D'EXTRACTION EN PHASE SOLIDE DU GLYPHOSATE ET DE L'AMPA DANS L'EAU POUR ANALYSE LC

Les protocoles de préparation des solutions (termes soulignés) sont détaillés en Annexe 1.

Prélèvement et traitement de l'échantillon

Prélever environ 50 mL d'eau de rivière dans un flacon en polypropylène et conserver au frigo. Filtrer environ 20 mL (cellulose régénérée 0,45 µm).

Dans un tube en polypropylène de 50 mL, ajouter 5000 µL d'eau filtrée, puis 50 µL de ST de glyphosate et d'AMPA marqués (surrogates).

Contrôles qualité

L'utilisation de surrogates permet d'évaluer les rendements d'extraction pour chaque échantillon. Pour chaque série, un blanc est effectué avec de l'eau d'Evian.

Dérivation des composés

Ajouter 325 µL de borate de sodium 50 mM, agiter.

Ajouter 200 µL d'EDTA-Na₂, agiter et laisser reposer 5 min.

Ajouter 4500 µL d'ACN, agiter.

Ajouter 600 µL de FMOCCl 50 mg.mL⁻¹, agiter.

Laisser reposer 30 min à l'obscurité.

Evaporer sous azote jusqu'à 5 mL environ (1 h) pour éliminer l'ACN.

Purification de l'extrait par extraction liquide-liquide

Transférer les solutions dans des tubes en verre de 15 mL et rincer les tubes en polypropylène avec 500 µL d'UPW.

Faire l'extraction avec 1,5 mL d'EA, agiter et centrifuger 10 secondes.

Éliminer le surnageant à l'aide d'une pipette pasteur.

Répéter l'extraction trois fois.

Evaporer 15 min sous azote.

Ajouter 100 µL d'HCOOH 5 % (v/v) et compléter à 5 mL avec de l'UPW, agiter.

Extraction en phase solide

Placer des cartouches Oasis HLB (3 cc, 60 mg, 30 µm, Waters) sur le module d'extraction.

Conditionner les cartouches avec deux fois 500 µL de MeOH puis deux fois 500 µL d'HCOOH à 0,1 %.

Faire percoler les échantillons (débit 1 mL.min⁻¹).

Rincer les tubes avec 1000 µL d'HCOOH 0,1 % et faire percoler les fractions de rinçage à travers les cartouches.

Rincer les cartouches avec deux fois 500 µL d'UPW.

Sécher les cartouches sous vide.

Eluer avec trois fois 700 µL de MeOH/NH₄OH 2 % 70:30 (v/v) dans des fioles de 1000 µL.

Evaporer sous azote jusqu'à la moitié des fioles environ.

Compléter les fioles à 1000 µL avec de l'UPW et transférer en vial.

ANNEXE 5. EXTRACTION DE 44 PESTICIDES NEUTRES DANS LES SEDIMENTS POUR ANALYSE LC ET GC

Les protocoles de préparation des solutions (termes soulignés) sont détaillés en Annexe 1.

Prélèvement

Prélever la couche superficielle du sédiment dans un flacon en verre.
Conserver au congélateur.

Contrôles qualité

Pour chaque série, un blanc est effectué (100 % sable de Fontainebleau).

Traitement de l'échantillon

Lyophiliser les échantillons congelés (1 mBar pour la dessiccation primaire et 0,04 mBar pour la dessiccation secondaire ; lyophilisateur ALPHA 1-2 LDplus CHRIST).

Extraction sous fluide pressurisé

Peser 10 g de sédiment sec dans une cellule et compléter avec du sable de Fontainebleau.
Faire l'extraction dans les conditions suivantes (ASE 200 DIONEX) :

- pression : 100 bars
- température : 115 °C
- solvant d'extraction : mélange binaire méthanol 85 % et dichlorométhane 15 %
- nombre de cycles : 2
- 30 % de « flush » par cycle

L'extrait (environ 50 mL) est récupéré dans un tube en verre pour ASE de 100 mL.

Purification de l'extrait

Evaporer l'extrait jusqu'à 10 mL directement dans le tube en verre pour ASE.

Disposer des cartouches Oasis MAX (6 cc, 150 mg, 30 µm, Waters) sur le module d'extraction.

Conditionner les cartouches avec 6 mL de MeOH.

Placer des tubes coniques de récupération de 15 mL sous les cartouches.

Faire percoler les extraits à travers les cartouches et récupérer le percolat dans les tubes.

Rincer les cartouches avec 3 mL de dichlorométhane.

Ajuster le volume de l'éluat à 14 mL avec du MeOH.

Evaporer séparément [7 mL + 5 µL d'IS C18] et [7 mL d'éluat + 10 µL d'octanol + 5 µL d'IS GC].

Reprendre les tubes avec 500 µL d'UPW/ACN 90:10 (v/v) (LC) ou 500 µL d'EA (GC).

Transférer en vial.

ANNEXE 6. ANALYSE DE 33 PESTICIDES NEUTRES PAR RPLC-ESI-MS²

Matériel analytique

HPLC Dionex ultimate 3000.

Spectromètre de masse AB Sciex API2000.

Colonne Phenomenex Gemini-NX C18 3 µm, 110 Å, 100 mm × 2 mm munie d'une cartouche SecurityGuard Gemini-NX C18 4 mm × 2,0 mm.

Paramètres de masse

Tableau 5. Paramètre de masse de 33 pesticides neutres hydrophiles

Pesticide	Transition 1	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	Transition 2	DP (V)	CE (V)	CXP (V)
Acétochlore	270>224	25	20	5	270>148	25	20	5
Alachlore	270>162	25	30	4	270>238	25	30	4
Atrazine	216>174	25	25	4	216>104	25	25	4
Azoxystrobine	404>372	46	21	14	404>329	46	41	10
Carbaryl	202>145	41	15	6	202>127	41	39	6
Carbendazime	192>160	26	27	4	192>105	26	53	6
Carbofuran	222>165	41	17	6	222>123	41	31	6
3-Hydroxycarbofuran	238>163	46	19	6	238>107	46	43	4
Chlorfenvinphos	359>99	51	45	6	359>170	51	45	6
Chlorpyrifos	350>198	51	51	4	350>97	51	51	4
Chlortoluron	213>72	25	35	4	213>46	25	35	4
DCPMU	219>127	35	40	4	219>162	35	40	4
DCPU	205>127	30	40	4	205>162	30	40	4
DEA	188>146	30	25	3	188>104	30	25	3
DET	202>146	30	25	4	202>104	30	25	4
DIA	174>104	30	35	3	174>132	30	35	3
Diméthoate	230>199	41	13	6	230>125	41	29	6
Dimetomorph	388>301	26	29	10	388>165	26	41	6
Diuron	233>72	25	40	3	233>46	25	40	3
Hexazinone	253>171	21	21	6	253>71	21	49	4
IPPMU	193>94	30	30	4	193>151	30	30	4
IPPU	179>137	30	30	4	179>94	30	30	4
Irgarol	254>198	30	30	4	254>91	30	30	4
Isoproturon	207>72	30	35	4	207>165	30	35	4
Linuron	249>160	30	30	4	249>182	30	30	4
Métazachlore	278>134	25	30	4	278>210	25	30	4
Méthomyl	163>88	21	13	4	163>106	21	13	4
Métolachlore	284>252	25	30	4	270>176	25	30	4
Métoxuron	229>72	30	40	3	229>46	30	40	3
Pyrimicarbe	239>72	21	35	4	239>182	21	21	6
Simazine	202>132	30	30	4	202>124	30	30	4
Terbuthylazine	130>174	30	25	4	230>146	30	25	4
Thiodicarb	355>88	21	27	4	355>73	21	89	2
Atrazine-d5	221>179	25	25	4				
Carbaryl-d3	205>145	14	15	6				
Carbofuran-d3	225>123	41	31	6				
Chlorpyrifos-d10	360>107	51	51	4				
DEA-d6	194>147	30	25	3				
Diuron-d6	239>78	25	40	3				
Méthomyl-d3	166>88	11	15	6				
Métolachlore-d6	290>258	25	30	4				
Monuron-d6	205>78	30	30	4				
Prometryn-d6	248>159	25	25	4				
Simazine-d5	207>137	30	30	4				

Gradient d'élution

Tableau 6. Gradient d'élution RPLC pour la séparation de 33 pesticides neutres hydrophiles

Temps (min)	Débit ($\mu\text{L min}^{-1}$)	ACN (%)	UPW + 5 mM ammonium acetate (%)
0	400	10	90
1	400	10	90
4	400	30	70
8	400	40	60
9,5	400	80	20
10,5	400	80	20
11	400	10	90
15	400	10	90

Quantification

Etalonnage interne, gamme d'étalonnage en huit points : 0, 1, 2, 5, 10, 25, 50 et 100 ng.mL^{-1} .

ANNEXE 7. ANALYSE DE 19 HERBICIDES ACIDES PAR HILIC-ESI-MS²

Matériel analytique

HPLC Dionex ultimate 3000.

Spectromètre de masse AB Sciex API2000.

Colonne Machrey-Nagel Nucleodur HILIC 3 µm, 110 Å, 125 mm × 2 mm munie d'une précolonne Nucleodur HILIC 8 mm × 3 mm.

Paramètres de masse

Tableau 7. Paramètres de masse de 19 herbicides acides

Herbicide	Transition 1	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	Transition 2	DP (V)	CE (V)	CXP (V)
2,4-D	219>161	-20	-20	-18	219>125	-20	-34	-18
Acétochlore-ESA	314>121	-30	-28	-6	314>80	-30	-56	-4
Acétochlore-OA	264>146	-30	-12	-6	264>129	-30	-32	-6
Bentazone	239>132	-30	-35	-12	239>175	-30	-25	-15
Chlorsulfuron	356>139	-20	-46	-12	356>107	-20	-74	-12
Dicamba	219>175	-20	-6	-16	219>145	-20	-6	-16
Dichlorprop	233>161	-20	-14	-16	233>125	-20	-36	-16
Diclofop	325>253	-20	-20	-24	325>71	-20	-25	-8
Fenoprop	269>197	-20	-18	-18	269>161	-20	-40	-18
Iodosulfuron	506>139	-20	-50	-12	506>308	-20	-40	-30
Ioxynil	370>127	-20	-60	-10	370>215	-20	-30	-20
MCPA	199>141	-20	-20	-15	199>155	-20	-10	-15
Mecoprop	213>141	-20	-20	-8	213>71	-20	-18	-15
Mesotrione	338>291	-10	-14	-24	338>212	-10	-42	-20
Métolachlore-ESA	328>80	-35	-65	-6	328>121	-35	-30	-6
Métolachlore-OA	278>206	-20	-12	-18	278>174	-20	-20	-16
Metsulfuron-Me	380>139	-20	-20	-12	380>214	-20	-10	-20
Nicosulfuron	409>154	-20	-30	-14	409>227	-20	-18	-20
Sulcotrione	327>291	-20	-20	-26	327>212	-20	-40	-20
Bentazone-d6	245>132	-40	-36	-6				
Dicamba-d3	222>178	-20	-6	-8				
MCPA-d3	202>144	-20	-20	-15				
Metsulfuron-d3	383>142	-40	-50	-4,5				

Gradient d'élution

Tableau 8. Gradient d'élution HILIC pour la séparation de 19 herbicides acides

Temps (min)	Débit (µL.min ⁻¹)	UPW + ammonium acetate 200 mM (%)	ACN (%)	MeOH (%)
0	200	5	95	0
3	200	5	95	0
4	200	5	0	95
5	200	5	95	0
9	200	5	95	0

Quantification

Etalonnage interne, gamme d'étalonnage en huit points : 0, 1, 2, 5, 10, 25, 50 et 100 ng.mL⁻¹.

ANNEXE 8. ANALYSE DU GLYPHOSATE ET DE L'AMPA PAR RPLC-ESI-MS²

Les protocoles de préparation des solutions (termes soulignés) sont détaillés en Annexe 1.

Matériel analytique

HPLC Dionex ultimate 3000.

Spectromètre de masse AB Sciex API2000.

Colonne Waters X-Bridge 2,5 μm , 50 mm \times 2,1 mm munie d'une précolonne Waters X-Bridge 2,5 μm , 10 mm \times 2,1 mm.

Paramètres de masse

Tableau 9. Paramètres de masse du glyphosate et de l'AMPA dérivés

Composé	Transition 1	DP (V)	CE (V)	CXP (V)	Transition 2	DP (V)	CE (V)	CXP (V)
AMPA-FMOC	332>110	-20	-15	-10	332>136	-20	-20	-15
Glyphosate-FMOC	390>168	-15	-20	-15	390>150	-15	-40	-15
AMPA-FMOC (¹³ C, ¹⁵ N)	334>112	-20	-15	-10				
Glyphosate-FMOC (¹³ C, ¹⁵ N)	393>171	-15	-40	-15				

Gradient d'élution

Tableau 10. Gradient d'élution RPLC pour la séparation du glyphosate-FMOC et de l'AMPA-FMOC

Temps (min)	Débit ($\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)	ACN (%)	UPW + triéthylamine 0,1 % (%)
0	400	8	92
1,5	400	8	92
3	400	95	5
4,5	400	95	5
6	400	8	92
11	400	8	92

Quantification

Etalonnage externe, gamme d'étalonnage en six points :

Tableau 11. Préparation de la gamme extraite pour l'étalonnage du glyphosate-FMOC et de l'AMPA-FMOC

Echantillon	Blanc	0,05 ng.mL ⁻¹	0,1 ng.mL ⁻¹	0,5 ng.mL ⁻¹	1 ng.mL ⁻¹	1,5 ng.mL ⁻¹
V _{Evi} an (μL)	2500	2500	2500	2500	2500	2500
V _{UPW} (μL)	2400	2425	2350	1750	1000	250
ST Glyphosate (μL)	0	25	50	250	500	750
ST AMPA (μL)	0	25	50	250	500	750
ST Glyphosate (¹³ C ₂ ¹⁵ N) (μL)	50	12.5	25	125	250	375
ST AMPA (¹³ C ¹⁵ N) (μL)	50	12.5	25	125	250	375

ANNEXE 9. ANALYSE DES COMPOSES HYDROPHOBES PAR GC-MS²

Matériel analytique

GC THERMO Scientific TRACE GC ULTRA.

Spectromètre de masse THERMO Scientific Quantum

Colonne capillaire THERMO Scientific de type TR-5MS (5 % phenyl (equiv) Polysilphenylene-siloxane) (30 m x 0,25 mm i.d., 0,25 µm et précolonne silice désactivée 5 m x 0,32 mm i.d.).

Paramètres de masse

Tableau 12. Paramètres de masse de 13 pesticides neutres hydrophobes

Pesticide	Étalon interne associé	Transition 1	Transition 2	Collision Energy (V)
Aclonifène	Tébuconazole D6	264>194	212>182	20
Cyproconazole	Tébuconazole D6	222>125	224>127	20
Diflufenican	Tébuconazole D6	394>266	266>246	10
Epoxiconazole	Tébuconazole D6	192>138	193>111	10
Flusilazole	Tébuconazole D6	233>152	233>165	20
Iprodione	Tébuconazole D6	314>245	316>247	15
Kresoxim-méthyl	Tébuconazole D6	206>89	206>116	30
Norflurazon	Tébuconazole D6	303>145	305>145	20
Oxadiazon	Atrazine D5	258>175	304>260	10
Pendiméthaline	Tébuconazole D6	252>162	252>191	12
Procymidone	Atrazine D5	283>96	283>255	15
Tébuconazole	Tébuconazole D6	250>125	252>127	20
Trifluraline	Atrazine D5	264>160	306>264	15
Atrazine-d5		205/105		20
Tébuconazole-d6		256/125		10

Paramètre GC

Injection en mode « constant temperature splitless with surge », 280 °C, mode splitless pendant 1 min avec débit de 5 mL.min⁻¹ afin d'accélérer le transfert en tête de colonne, puis débit de fuite de 100 mL.min⁻¹.

Débit de gaz vecteur : 1,2 mL.min⁻¹.

Volume d'injection : 1 µL.

Température de la ligne de transfert : 250 °C

Tableau 13. Rampe de température pour la séparation de 13 pesticides neutres hydrophobes par GC

Temps (min)	Température (°C)
0	50
1	50
9	190
16,5	220
20,5	300
30	50
35	50

Quantification

Etalonnage interne, gamme d'étalonnage en neuf points : 0, 1, 2, 5, 10, 25, 100, 250 et 500 ng.mL⁻¹.

ANNEXE 10. DOPAGE DE LA PHASE RECEPTRICE AVEC LES COMPOSES DE PERFORMANCE ET DE REFERENCE CHOISIS (PRC)

PRC utilisés

Dicamba-d3, DIA-d5.

Protocole

Rincer 6 g de phase Oasis HLB (30 μm) avec 20 mL de MeOH, puis la sécher sous flux d'azote.

Dissoudre 20 μg de chaque PRC dans 25 mL de MeOH.

Dans un ballon de 500 mL, peser 5 g de phase et ajouter la solution de PRC.

Passer le mélange aux ultrasons pendant 5 min.

Evaporer ensuite le MeOH à l'aide d'un évaporateur rotatif (attention aux projections de phase).

Finir d'évaporer en laissant quelques heures à l'étuve (50 °C).

Conserver la phase dopée à 4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ à 4 °C.

Pour chaque série d'échantillonneurs préparée, associer trois cartouches dites « de référence » contenant 200 mg de phase pour quantifier la concentration initiale réelle en PRC.

ANNEXE 11. PREPARATION ET RECUPERATION DES ECHANTILLONNEURS

PASSIFS

POCIS

Disposer une membrane de PES (PALL Corp., 90 mm, 0,1 μm) sur un anneau de POCIS.

Peser la masse voulue (200, 400, 600 mg) de phase choisie (Oasis HLB, Oasis MAX, Chromabond Hr-X) directement au centre de la membrane.

Disposer une seconde membrane sur la phase, puis refermer avec un deuxième anneau.

Disposer les écrous et boulons de manière à verrouiller le dispositif.

Conservez les échantillonneurs au réfrigérateur dans une enceinte remplie d'azote.

Après exposition, nettoyer les dispositifs à l'eau déminéralisée, et laisser sécher quelques heures.

Disposer des cartouches avec entonnoirs (Supelco, 6 cc) sur le module d'extraction.

Enlever les boulons et écrous du POCIS, et récupérer la phase réceptrice sur chaque membrane avec un volume total de 5 mL d'UPW (2 mL par membrane, 1 mL pour rincer l'entonnoir).

Sécher la cartouche (1 h sous flux d'azote), et les conserver au congélateur avant élution.

μ POCIS

Retourner le manchon sur la paillasse, et insérer une membrane de PES (Sartorius, 25 mm, 0,1 μm).

Disposer un anneau de silicone (20/25 mm, i.d./o.d., 2 ou 4 mm d'épaisseur pour 200 et 400 mg de phase respectivement) afin de maintenir la membrane une fois le dispositif fermé.

Peser la masse voulue (200 ou 400 mg) de phase dans la cavité formée.

Refermer soigneusement avec le piston (appuyer jusqu'à arriver en butée sur l'anneau de silicone).

Conserver le dispositif monté au réfrigérateur dans une enceinte remplie d'azote avant exposition.

Après exposition, nettoyer l'échantillonneur (eau déminéralisée), et laisser sécher quelques heures.

Disposer des cartouches avec entonnoirs (Supelco, 6 cc) sur le module d'extraction.

Ôter le piston et récupérer la phase résiduelle avec 1 mL d'UPW directement dans l'entonnoir.

Récupérer la phase dans le manchon à l'aide de 3x1 mL d'UPW et rincer l'entonnoir avec 1 mL d'UPW.

Sécher la cartouche (1 h sous flux d'azote), et les conserver au congélateur avant élution.

DGT-HLB

Retourner le manchon sur la paillasse, et insérer une membrane de PES (Sartorius, 25 mm, 0,1 μm) trempée au préalable dans de l'UPW pour faciliter l'étape suivante.

Insérer le gel de diffusion (DGT research, polyacrylamide, 0,78 mm d'épaisseur, 25 mm o.d.).

Disposer un anneau de silicone (20/25 mm, i.d./o.d., 2 ou 4 mm d'épaisseur pour 200 et 400 mg de phase respectivement) afin de maintenir la membrane et le gel une fois le dispositif fermé.

Peser la masse voulue (200 ou 400 mg) de phase dans la cavité formée (directement sur le gel).

Refermer soigneusement avec le piston (appuyer jusqu'à arriver en butée sur l'anneau de silicone).

Conserver les dispositifs dans de l'eau ultrapure au réfrigérateur.

Après exposition, suivre le protocole « μ POCIS ».

ANNEXE 12. ELUTION DE LA PHASE RECEPTRICE DES ECHANTILLONNEURS PASSIFS.

Les protocoles de préparation des solutions (termes soulignés) sont détaillés en Annexe 1.

Protocole général

Tasser les cartouches et les disposer sur le module d'élution.

Mettre des tubes coniques en verre de 15 mL sous chaque cartouche.

Faire percoler les fractions suivantes en fonction de la nature de la phase réceptrice :

- Oasis HLB (200 à 600 mg) et Chromabond Hr-X: 5 mL MeOH + 5 mL MeOH/EA 50:50 (v/v)

- Oasis MAX: 5 mL MeOH/EA 50:50 (v/v) + 5 mL MeOH/HCOOH 90:10 (v/v)

Evaporer les éluats à sec sous flux d'azote (pour l'analyse des extraits de POCIS HLB par GC, on appliquera la méthode décrite dans l'Annexe 2).

Reprendre les résidus secs avec 1000 µL d'ACN.

Aliquoter et effectuer un changement de solvant en fonction de l'analyse désirée.

Elution des métabolites ESA de la phase Oasis MAX

Les métabolites ESA des chloroacétanilides ne sont pas élués de la phase Oasis MAX avec le protocole détaillé ci-dessus. Toutefois, une fraction d'élution complémentaire (5 mL NaCl 1 M/MeOH 50:50 (v/v)) permet des les décrocher. L'éluat salé obtenu doit cependant subir une étape additionnelle de purification (incompatibilité des sels inorganiques avec la source ESI) :

Evaporer l'éluat à 5 mL environ.

Transférer en fiole de 200 mL.

Rincer trois fois les tubes et compléter la fiole avec de l'eau ultrapure.

Ajouter 100 µL de solution surrogates HILIC.

Ajuster le pH à 5.

Appliquer ensuite le d'extraction protocole détaillé en Annexe 3.

ANNEXE 13. PRINCIPES DES SYSTEMES DE CALIBRATION

Recommandations générales

Pendant une calibration, il est nécessaire de contrôler et mesurer un maximum de paramètres (caractéristiques de l'eau -pH, conductivité, MOD, etc.-, température, luminosité, agitation, concentrations en analytes). Les systèmes fermés sont de plus en plus délaissés pour des systèmes ouverts à cause des fortes variations de concentration observées (phénomène de dégradation, adsorption, fraction échantillonnée par les dispositifs, etc.). Quel que soit le système de calibration choisi, il est nécessaire de l'équilibrer pendant quelques jours (établissement d'un équilibre eau-aquarium), et de contrôler la concentration dans l'eau tous les deux jours. L'eau souillée doit être dépolluée par un traitement au charbon actif (granulés disponible en animalerie) avant d'être évacuée. Les fuites peuvent être limitées en vérifiant l'état des tuyaux des pompes péristaltiques et la solidité des raccords, ainsi que l'état des cuves.

Système fermé

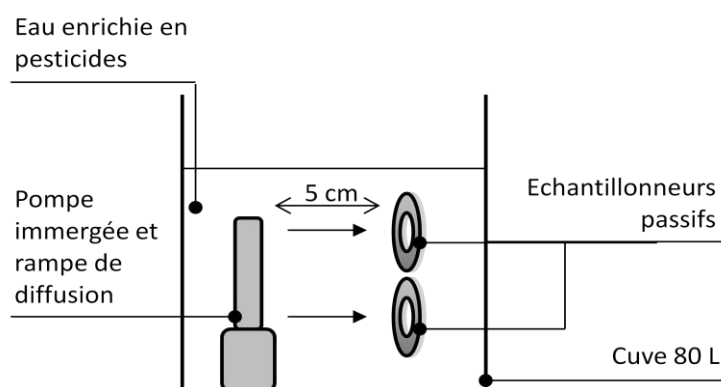


Figure 51. Schéma d'un système de calibration fermé.

Dans un système fermé, l'eau est contaminée ponctuellement (dopage initial et dopages complémentaires si besoin). La concentration dans l'eau est donc amenée à varier sensiblement).

Système ouvert

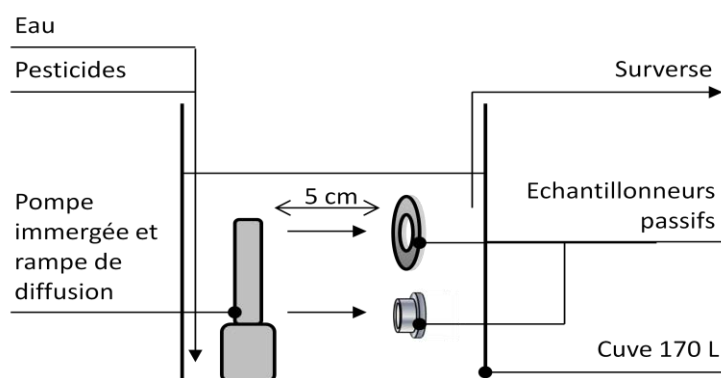


Figure 52. Schéma d'un système de calibration ouvert.

Dans un système ouvert, l'eau est renouvelée en continu (e.g. 25 % du volume total par jour). Une solution de pesticides est pompée par un pousse seringue (KdScientific 200 CE ; $5,9 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ à $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, soit $59 \text{ ng}\cdot\text{min}^{-1}$) et l'eau propre est pompée conjointement par une pompe péristaltique (Ismatec IMS827B ; $30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$). Cette dernière peut également faire office de surverse.

ANNEXE 14. SUPPORTING INFORMATIONS OF “OPTIMIZATION OF POLAR ORGANIC CHEMICAL INTEGRATIVE SAMPLER AND DIFFUSIVE GRADIENT IN THIN-FILM FOR THE SAMPLING OF ORGANIC ACIDS”

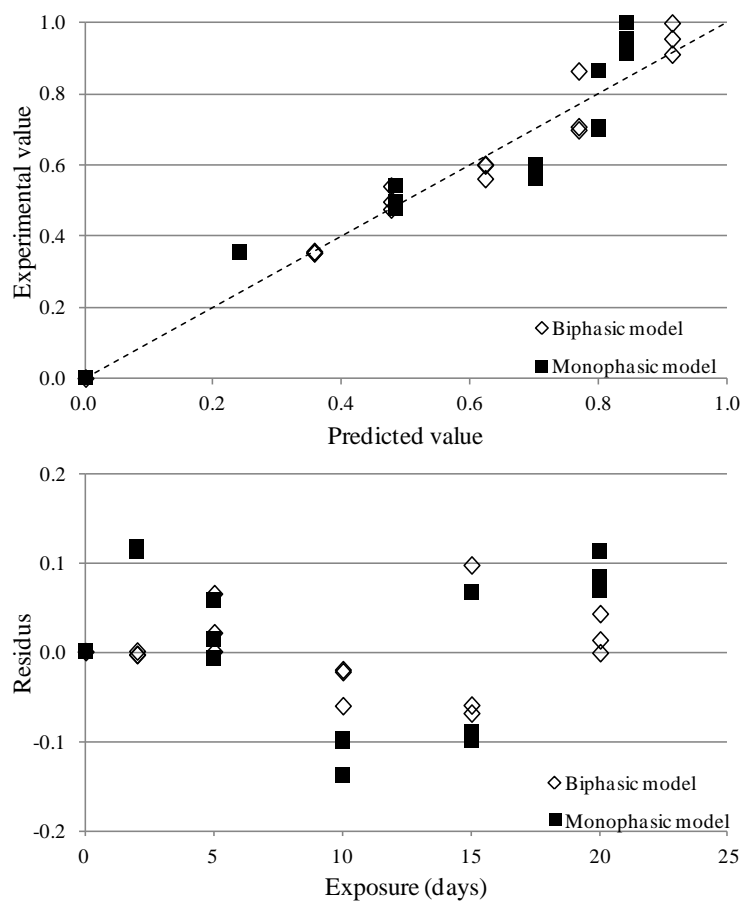


Figure 53. Errors associated to the monophasic and biphasic models (2,4-D, P-200, n=3).

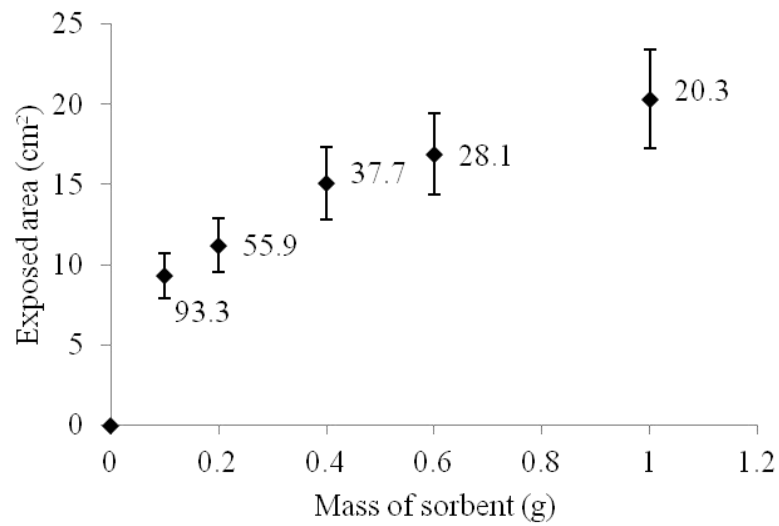


Figure 54. Evolution of the POCIS exposure surface area as a function of the mass of sorbent (n=3). Area on mass ratio associated values. Bars represent the standard deviation.

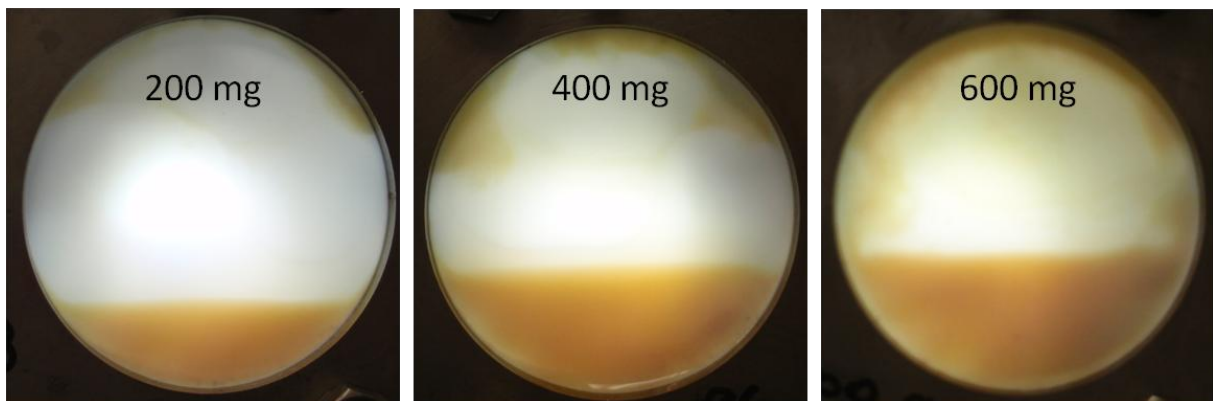


Figure 55. Membrane area in contact with the Oasis HLB receiving phase for POCIS containing 200, 400 and 600 mg of sorbent.

ANNEXE 15. SUPPORTING INFORMATIONS OF “USE OF MIXED-MODE ANION EXCHANGE SORBENT FOR THE PASSIVE SAMPLING OF ORGANIC ACIDS BY POLAR ORGANIC CHEMICAL INTEGRATIVE SAMPLER”

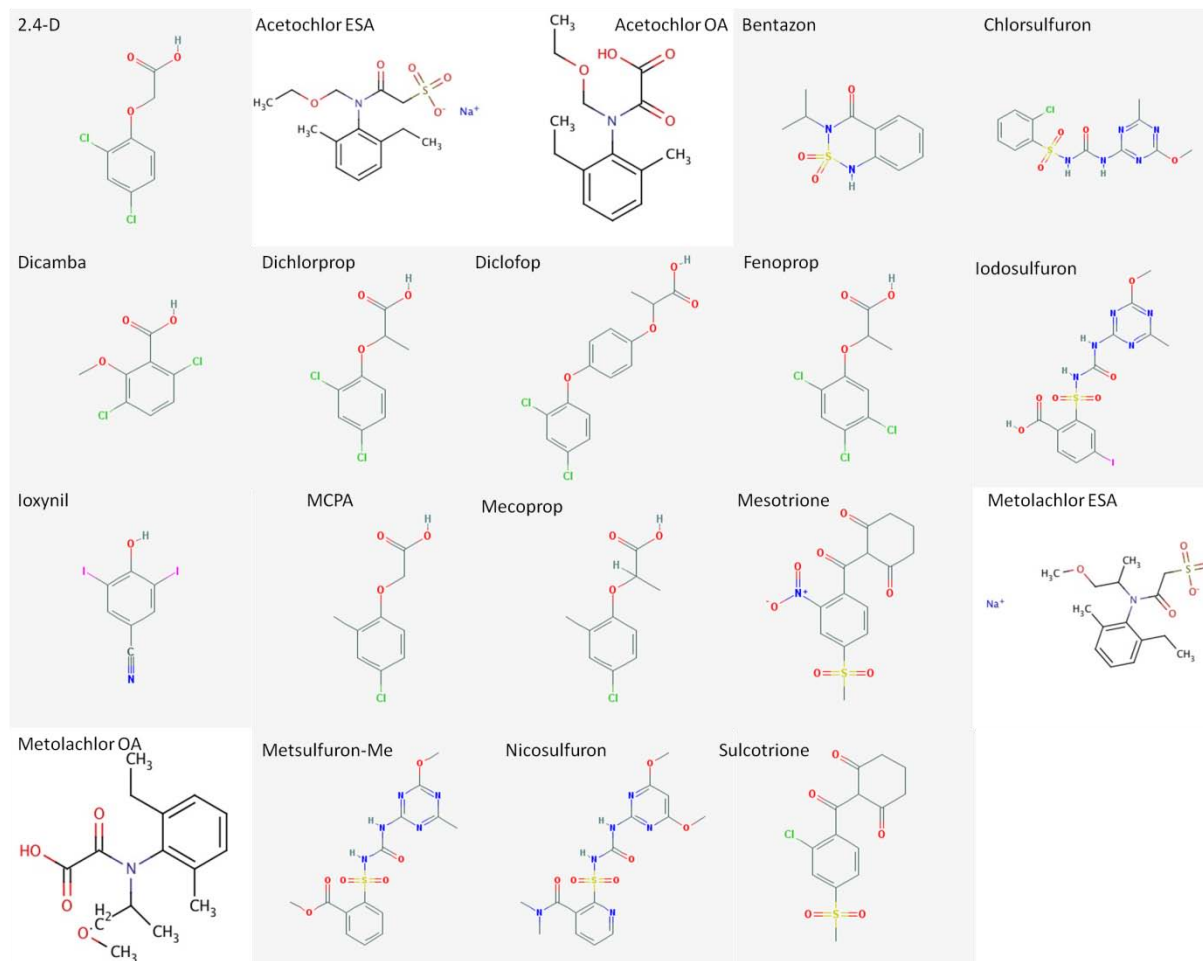


Figure 56. Molecular structure of anionic herbicides (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> and [santa cruz biotechnology, inc.](http://www.santacruzbiotech.com/)).

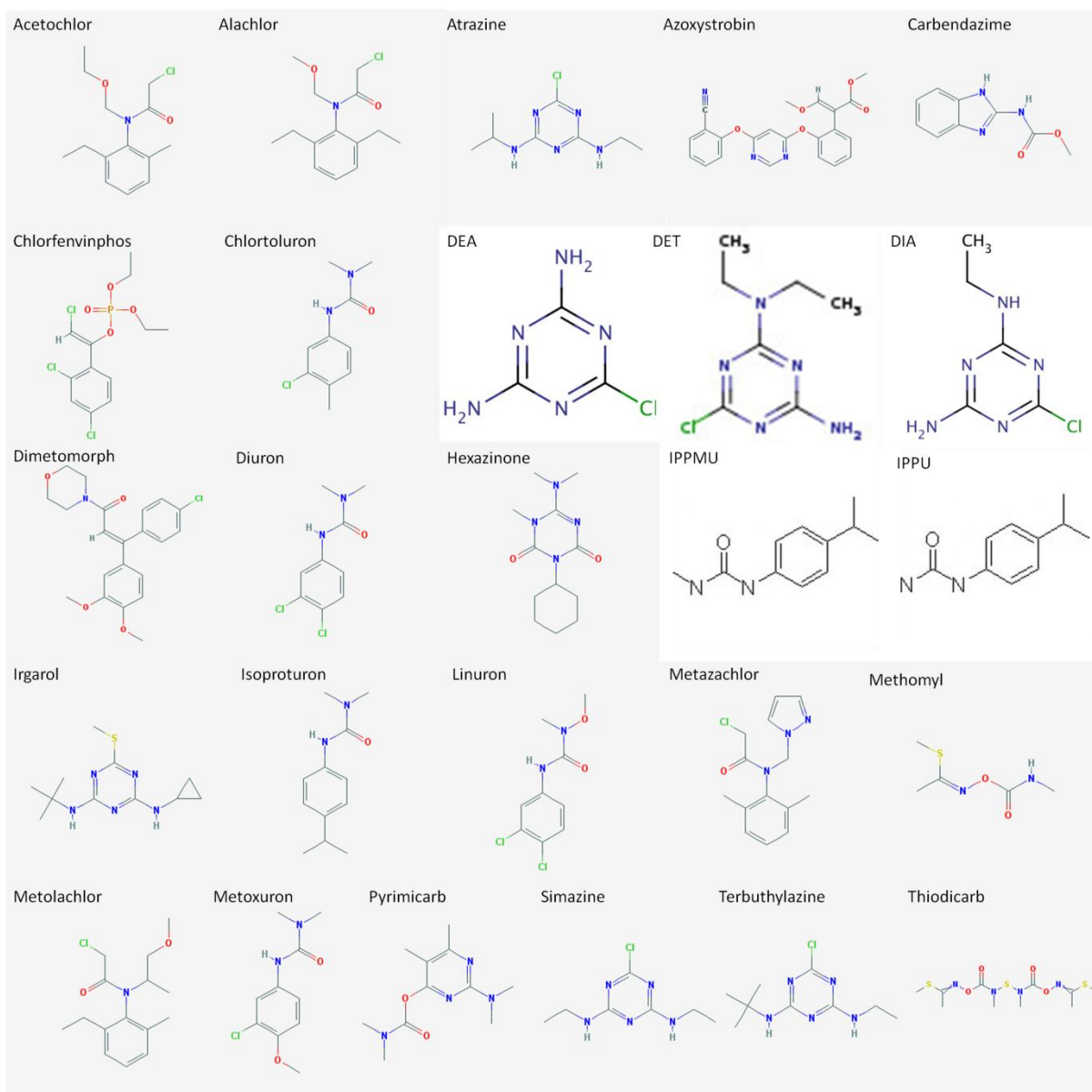


Figure 57. Molecular structure of neutral pesticides (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> and [santa cruz biotechnology, inc.](http://www.santacruzbiotech.com/)).

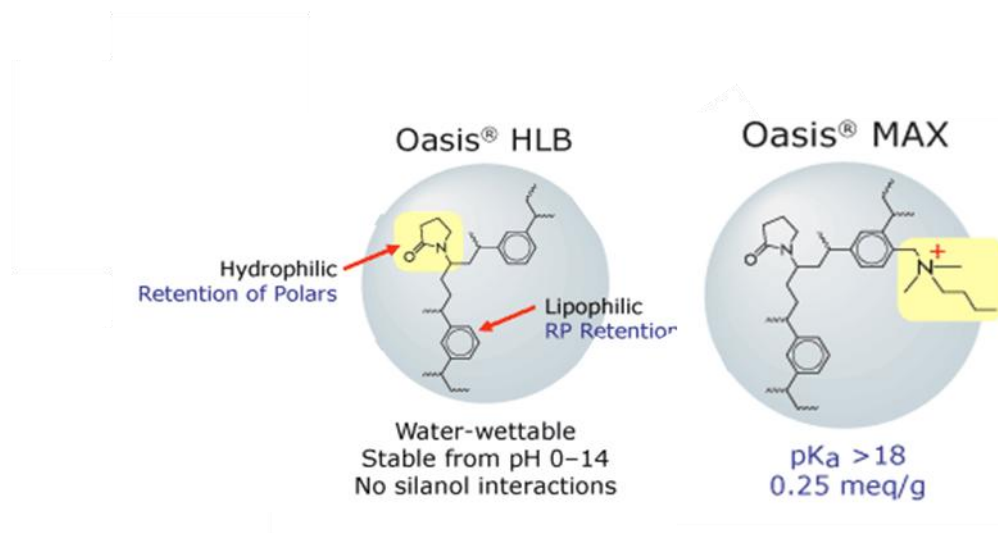


Figure 58. Backbone and functional groups of the Oasis HLB and MAX sorbents (Waters).

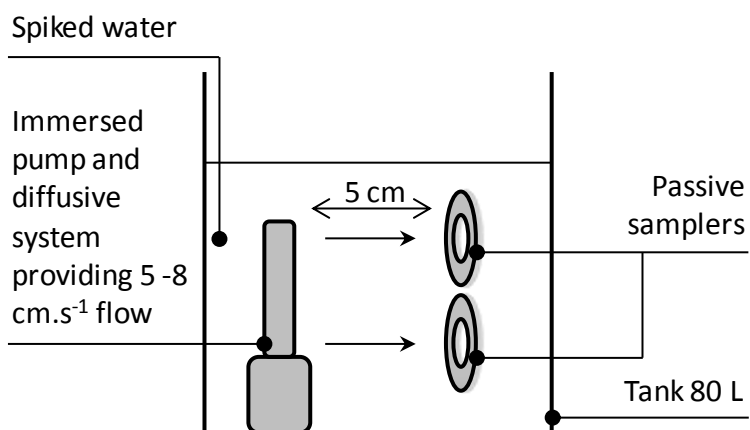


Figure 59. Static renewal calibration system.

Tableau 14. Mass parameters optimized for acidic herbicides

Herbicide	Quantitative transition	DP (V) ^a	CE (V) ^b	CXP (V) ^c	Qualitative transition	DP (V) ^a	CE (V) ^b	CXP (V) ^c
2,4D	219>161	-20	-20	-18	219>125	-20	-34	-18
Acetochlor ESA	314>121	-30	-28	-6	314>80	-30	-56	-4
Acetochlor OA	264>146	-30	-12	-6	264>129	-30	-32	-6
Bentazone	239>132	-30	-35	-12	239>175	-30	-25	-15
Chlorsulfuron	356>139	-20	-46	-12	356>107	-20	-74	-12
Dicamba	219>175	-20	-6	-16	219>145	-20	-6	-16
Dichlorprop	233>161	-20	-14	-16	233>125	-20	-36	-16
Diclofop	325>253	-20	-20	-24	325>71	-20	-25	-8
Fenoprop	269>197	-20	-18	-18	269>161	-20	-40	-18
Iodosulfuron	506>139	-20	-50	-12	506>308	-20	-40	-30
Ioxynil	370>127	-20	-60	-10	370>215	-20	-30	-20
MCPA	199>141	-20	-20	-15	199>155	-20	-10	-15
Mecoprop	213>141	-20	-20	-8	213>71	-20	-18	-15
Mesotrione	338>291	-10	-14	-24	338>212	-10	-42	-20
Metolachlor ESA	328>80	-35	-65	-6	328>121	-35	-30	-6
Metolachlor OA	278>206	-20	-12	-18	278>174	-20	-20	-16
Metsulfuron-Me	380>139	-20	-20	-12	380>214	-20	-10	-20
Nicosulfuron	409>154	-20	-30	-14	409>227	-20	-18	-20
Sulcotrione	327>291	-20	-20	-26	327>212	-20	-40	-20
Bentazon d6	245>132	-40	-36	-6				
Dicamba d3	222>178	-20	-6	-8				
MCPA d3	202>144	-20	-20	-15				
Metsulfuron d3	383>142	-40	-50	-4.5				

^a: declustering potential

^b: collision energy

^c: cell exit potential

ANNEXE 16. CONTAMINATION DE LA CRASTE DE NEZER

Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS

Début d'exposition	Fin d'exposition	Alachlore	DCPMU	Diuron	IPPU	Irgarol
22 mars 2010	19 avril 2010	-	-	69	-	-
19 avril 2010	17 mai 2010	-	8	35	-	-
17 mai 2010	17 juin 2010	-	-	43	-	-
17 juin 2010	12 juillet 2010	-	12	43	-	-
12 juillet 2010	5 aout 2010	-	-	65	-	-
5 aout 2010	6 septembre 2010	-	7	24	-	-
6 septembre 2010	4 octobre 2010	-	-	14	-	-
4 octobre 2010	2 novembre 2010	-	-	-	-	-
2 novembre 2010	29 novembre 2010	7	-	24	-	-
29 novembre 2010	4 janvier 2011	7	6	23	-	-
4 janvier 2011	31 janvier 2011	13	-	34	-	-
31 janvier 2011	28 février 2011	-	-	23	10	-
28 février 2011	28 mars 2011	-	-	31	-	-
28 mars 2011	26 avril 2011	-	-	43	-	-
26 avril 2011	23 mai 2011	-	-	23	-	-
23 mai 2011	20 juin 2011	-	-	38	-	-
20 juin 2011	21 juillet 2011	-	-	10	-	2
21 juillet 2011	22 aout 2011	-	-	0	-	-
22 aout 2011	19 septembre 2011	-	-	15	-	-
19 septembre 2011	17 octobre 2011	-	-	16	-	-
17 octobre 2011	14 novembre 2011	-	-	11	-	-
14 novembre 2011	12 décembre 2011	-	-	29	-	-

Résultats d'analyse des herbicides anioniques échantillonnés par prélèvements ponctuels

Date	2,4-D	Acétochlore-ESA	AMPA	Glyphosate	MCPA	Mecoprop	Métolachlore-ESA	Métolachlore-OA
22 mars 2010	-	41	-	-	-	11	203	84
19 avril 2010	-	39	-	-	-	-	129	41
17 mai 2010	N.D.	N.D.	-	33	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
17 juin 2010	-	31	36	50	-	-	84	20
12 juillet 2010	-	58	-	-	-	-	177	59
5 aout 2010	-	69	-	32	-	-	224	138
6 septembre 2010	-	68	-	-	-	-	225	133
4 octobre 2010	-	33	-	30	-	-	85	-
2 novembre 2010	-	29	-	31	-	-	116	24
29 novembre 2010	-	-	-	-	126	-	55	21
4 janvier 2011	-	24	-	-	-	31	90	29
31 janvier 2011	-	46	-	-	-	35	87	22
28 février 2011	-	-	-	-	-	35	50	25
28 mars 2011	-	21	-	-	-	53	75	37
26 avril 2011	-	26	-	-	-	35	89	12
23 mai 2011	-	59	-	-	-	13	175	98
20 juin 2011	-	42	-	-	-	-	215	109
21 juillet 2011	-	51	-	-	-	-	181	91
22 aout 2011	-	62	-	34	-	-	230	130
19 septembre 2011	-	74	-	-	-	-	251	143
17 octobre 2011	-	73	-	-	-	-	291	171
14 novembre 2011	-	62	-	-	-	-	211	123
12 décembre 2011	15	35	-	-	-	-	108	57

Résultats d'analyse des pesticides neutres dans les sédiments

Date	Acétochlore	Chlorfenvinphos	Diflufenican	Diuron	Irgarol	Metolachlor	Oxadiazon	Procymidone	Terbutylazine
22 mars 2010	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-
19 avril 2010	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-
12 juillet 2010	-	-	1,4	-	-	-	2,0	-	-
29 novembre 2010	0,7	5,7	-	0,1	-	0,8	0,5	1,8	0,8
26 avril 2011	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21 juillet 2011	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17 octobre 2011	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-

N.D. : Non Disponible (difficulté de prélèvement ou analytique)

ANNEXE 17. CONTAMINATION DU CANAL DES LANDES

Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS

Début d'exposition	Fin d'exposition	Alachlore	Diuron	Hexazinone	IPPU	Irgarol	Métolachlore	Thiodicarb
22 mars 2010	19 avril 2010	-	27	23	-	-	19	-
19 avril 2010	17 mai 2010	-	43	35	-	-	16	81
17 mai 2010	17 juin 2010	-	-	-	-	-	-	-
17 juin 2010	12 juillet 2010	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
12 juillet 2010	5 août 2010	-	46	9	-	14	-	-
5 août 2010	6 septembre 2010	-	32	6	-	8	-	-
6 septembre 2010	4 octobre 2010	9	36	9	-	8	-	-
4 octobre 2010	2 novembre 2010	-	20	12	-	-	-	-
2 novembre 2010	29 novembre 2010	6	10	12	-	-	-	-
29 novembre 2010	4 janvier 2011	5	9	9	-	-	-	-
4 janvier 2011	31 janvier 2011	14	11	11	-	-	13	-
31 janvier 2011	28 février 2011	-	19	-	-	-	-	-
28 février 2011	28 mars 2011	-	-	-	10	-	10	-
28 mars 2011	26 avril 2011	-	14	7	7	-	7	-
26 avril 2011	23 mai 2011	-	14	5	-	-	-	-
23 mai 2011	20 juin 2011	-	23	10	-	4	-	-
20 juin 2011	21 juillet 2011	-	9	4	-	3	-	-
21 juillet 2011	22 août 2011	-	-	-	-	-	-	-
22 août 2011	19 septembre 2011	-	26	11	-	-	-	-
19 septembre 2011	17 octobre 2011	-	11	-	-	-	10	-
17 octobre 2011	14 novembre 2011	-	12	5	-	-	-	-
14 novembre 2011	12 décembre 2011	-	24	19	-	-	-	-

Résultats d'analyse des herbicides anioniques échantillonnés par prélèvements ponctuels

Date	2,4-D	Acétochlore-ESA	Glyphosate	MCPA	Mecoprop	Métolachlore-ESA	Métolachlore-OA
22 mars 2010	-	125	-	-	-	485	236
19 avril 2010	-	63	-	-	-	208	117
17 mai 2010	-	-	-	-	-	-	-
17 juin 2010	-	49	-	9	-	218	92
12 juillet 2010	-	62	-	-	-	205	27
5 août 2010	-	64	-	-	-	255	140
6 septembre 2010	-	69	-	-	-	227	109
4 octobre 2010	-	40	-	-	-	93	-
2 novembre 2010	-	34	-	-	-	162	47
29 novembre 2010	-	29	-	41	-	102	30
4 janvier 2011	-	69	-	-	-	429	131
31 janvier 2011	-	51	-	-	-	187	35
28 février 2011	-	80	-	8	-	384	216
28 mars 2011	-	65	-	12	-	350	181
26 avril 2011	-	37	-	47	-	140	32
23 mai 2011	-	69	-	-	-	199	118
20 juin 2011	-	32	-	-	-	150	85
21 juillet 2011	-	42	-	-	-	162	49
22 août 2011	33	52	33	-	-	151	100
19 septembre 2011	-	55	-	-	-	187	103
17 octobre 2011	-	69	-	-	11	193	114
14 novembre 2011	-	42	-	-	-	123	73
12 décembre 2011	-	48	-	-	-	156	90

Résultats d'analyse des pesticides neutres dans les sédiments

Date	Chlorfenvinphos	Diuron	Irgarol	Metolachlor
22 mars 2010	-	-	0,9	-
19 avril 2010	-	-	0,9	-
12 juillet 2010	-	-	0,4	-
29 novembre 2010	2,2	-	-	0,5
26 avril 2011	-	-	-	-
21 juillet 2011	-	0,3	-	0,6
17 octobre 2011	-	-	-	-

N.D. : Non Disponible (difficulté de prélèvement ou analytique)

Date surlignée : POCIS perdu remplacé par un prélèvement ponctuel en fin d'exposition

ANNEXE 18. CONTAMINATION DU RUISSEAU DU BOURG

Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS

Début d'exposition	Fin d'exposition	Acétochlore	Alachlore	Carbendazime	DCPMU	Diuron	IPPU	Linuron	Metazachlore	Métolachlore	Metoxuron
22 mars 2010	19 avril 2010	6	-	23	19	152	-	-	-	131	-
19 avril 2010	17 mai 2010	80	-	25	29	156	-	808	-	17	329
17 mai 2010	17 juin 2010	-	-	-	22	153	-	21	-	5	-
17 juin 2010	12 juillet 2010	-	-	-	47	217	-	31	-	31	-
12 juillet 2010	5 août 2010	-	-	-	17	147	-	-	-	-	-
5 août 2010	6 septembre 2010	-	-	-	26	147	-	-	-	-	-
6 septembre 2010	4 octobre 2010	-	-	-	16	157	-	-	-	-	-
4 octobre 2010	2 novembre 2010	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-
2 novembre 2010	29 novembre 2010	-	6	25	14	62	-	47	12	154	-
29 novembre 2010	4 janvier 2011	-	-	-	-	-	-	-	38	113	-
4 janvier 2011	31 janvier 2011	-	-	-	-	31	-	-	97	262	-
31 janvier 2011	28 février 2011	-	-	-	-	87	29	37	63	154	-
28 février 2011	28 mars 2011	-	-	-	-	96	8	-	22	108	-
28 mars 2011	26 avril 2011	-	-	-	38	109	-	-	16	351	-
26 avril 2011	23 mai 2011	-	-	-	-	74	-	-	-	39	-
23 mai 2011	20 juin 2011	25	-	-	-	-	-	-	-	37	-
20 juin 2011	21 juillet 2011	-	13	-	-	95	-	-	-	-	-
21 juillet 2011	22 août 2011	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22 août 2011	19 septembre 2011	-	-	-	31	133	-	-	-	-	-
19 septembre 2011	17 octobre 2011	-	-	-	-	227	-	-	108	157	-
17 octobre 2011	14 novembre 2011	-	-	-	-	36	-	-	-	-	-
14 novembre 2011	12 décembre 2011	-	-	-	63	208	-	-	-	-	-

Résultats d'analyse des herbicides anioniques échantillonnés par prélèvements ponctuels

Date	Acétochlore-ESA	Acétochlore-OA	AMPA	Bentazone	Glyphosate	Mecoprop	Métolachlore-ESA	Métolachlore-OA
22 mars 2010	294	77	-	52	-	16	777	737
19 avril 2010	135	35	-	17	-	16	467	356
17 mai 2010	N.D.	N.D.	-	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.
17 juin 2010	29	-	-	-	-	-	138	102
12 juillet 2010	34	-	-	-	-	-	138	41
5 août 2010	38	-	-	-	-	7	172	114
6 septembre 2010	30	-	-	-	-	-	123	98
4 octobre 2010	28	-	46,7	-	183	-	110	68
2 novembre 2010	32	-	-	11	-	-	159	75
29 novembre 2010	295	111	-	135	-	-	1611	941
4 janvier 2011	211	64	-	156	-	-	1384	530
31 janvier 2011	309	180	-	206	-	-	1133	460
28 février 2011	358	119	-	142	-	-	1676	1045
28 mars 2011	268	99	-	55	-	-	957	717
26 avril 2011	270	87	-	92	-	-	932	144
23 mai 2011	39	-	-	11	-	-	163	116
20 juin 2011	28	-	-	15	-	8	165	115
21 juillet 2011	27	-	-	11	-	6	117	84
22 août 2011	44	-	27,5	11	-	-	153	116
19 septembre 2011	41	-	-	-	-	-	139	97
17 octobre 2011	37	-	-	11	-	-	148	93
14 novembre 2011	28	-	-	-	-	-	114	80
12 décembre 2011	37	-	-	11	-	-	113	87

Résultats d'analyse des pesticides neutres dans les sédiments

Date	Carbendazime	Chlorpyrifos	DCPMU	Diflufenican	Diuron	Hexazinone	Irgarol	Oxadiazon	Simazine
22 mars 2010	-	-	8,1	-	5,4	-	0,8	-	1,3
19 avril 2010	-	1,0	5,6	-	11,4	-	-	-	-
12 juillet 2010	0,2	5,4	10,7	8,5	14,5	4,6	-	1,4	-
29 novembre 2010	0,3	3,1	2,8	2,3	1,8	2,1	-	0,6	-
26 avril 2011	0,1	-	0,4	-	0,6	-	-	-	-
21 juillet 2011	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-
17 octobre 2011	0,3	2,7	14,6	7,4	5,3	-	-	1,6	-

N.D. : Non Disponible (difficulté de prélèvement ou analytique)

Date surlignée : POCIS perdu remplacé par un prélèvement ponctuel en fin d'exposition

ANNEXE 19. CONTAMINATION DE LA LEYRE

Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS

Début d'exposition	Fin d'exposition	Acétochlore	Alachlore	Azoxystrobine	DCPMU	Diuron	Isoproturon	Métolachlore
22 mars 2010	19 avril 2010	30	10	159	-	-	-	44
19 avril 2010	17 mai 2010	22	-	-	-	-	-	51
17 mai 2010	17 juin 2010	34	-	14	-	-	-	139
17 juin 2010	12 juillet 2010	34	34	-	-	-	-	199
12 juillet 2010	5 août 2010	-	-	-	-	-	-	20
5 août 2010	6 septembre 2010	-	-	-	-	-	-	-
6 septembre 2010	4 octobre 2010	-	-	-	-	-	-	17
4 octobre 2010	2 novembre 2010	-	-	-	-	-	-	16
2 novembre 2010	29 novembre 2010	-	-	-	-	-	-	45
29 novembre 2010	4 janvier 2011	31	15	-	-	-	-	79
4 janvier 2011	31 janvier 2011	-	-	-	-	-	957	26
31 janvier 2011	28 février 2011	101	-	127	-	-	-	129
28 février 2011	28 mars 2011	27	-	120	-	-	-	38
28 mars 2011	26 avril 2011	17	-	43	-	26	-	72
26 avril 2011	23 mai 2011	-	-	-	-	-	-	30
23 mai 2011	20 juin 2011	-	-	-	40	101	-	-
20 juin 2011	21 juillet 2011	12	-	-	-	6	-	25
21 juillet 2011	22 août 2011	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
22 août 2011	19 septembre 2011	14	-	-	-	-	-	42
19 septembre 2011	17 octobre 2011	24	-	-	-	-	-	24
17 octobre 2011	14 novembre 2011	54	-	-	-	-	-	61
14 novembre 2011	12 décembre 2011	13	-	-	-	-	-	62

Résultats d'analyse des herbicides anioniques échantillonnés par prélèvements ponctuels

Date	Acétochlore-ESA	Acétochlore-OA	AMPA	Bentazone	Métolachlore-ESA	Métolachlore-OA
22 mars 2010	1090	62	-	53	1095	590
19 avril 2010	1000	71	-	40	1071	612
17 mai 2010	N.D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.
17 juin 2010	710	54	40	28	791	323
12 juillet 2010	652	45	36	18	630	254
5 août 2010	729	56	44	23	642	276
6 septembre 2010	528	25	37	13	558	204
4 octobre 2010	457	31	42	14	433	172
2 novembre 2010	721	114	-	29	1037	462
29 novembre 2010	959	170	-	86	1851	1008
4 janvier 2011	878	124	-	89	1347	654
31 janvier 2011	724	84	-	56	1159	523
28 février 2011	863	123	-	66	1469	789
28 mars 2011	635	60	-	45	1031	485
26 avril 2011	478	48	35	40	665	126
23 mai 2011	532	96	-	38	743	353
20 juin 2011	485	96	-	48	777	361
21 juillet 2011	676	123	-	56	771	371
22 août 2011	514	59	-	28	587	269
19 septembre 2011	460	57	30	18	516	217
17 octobre 2011	418	40	34	17	447	164
14 novembre 2011	493	59	-	22	558	234
12 décembre 2011	557	77	-	23	721	321

Résultats d'analyse des pesticides neutres dans les sédiments

Date	Acétochlore	Azoxystrobine
22 mars 2010	-	0,9
19 avril 2010	-	0,9
12 juillet 2010	-	-
29 novembre 2010	N.D.	N.D.
26 avril 2011	-	-
21 juillet 2011	1,4	-
17 octobre 2011	-	-

N.D. : Non Disponible (difficulté de prélèvement ou analytique)

Date surlignée : POCIS perdu remplacé par un prélèvement ponctuel en fin d'exposition

ANNEXE 20. CONTAMINATION DU RUISSEAU DU PONTEILS

Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS

Début d'exposition	Fin d'exposition	Alachlore	DCPMU	Diuron	Hexazinone	IPPU	Isoproturon	Linuron	Métolachlore
22 mars 2010	19 avril 2010	13	-	14	14	-	140	-	-
19 avril 2010	17 mai 2010	20	-	-	-	-	232	-	-
17 mai 2010	17 juin 2010	-	-	46	-	-	309	-	-
17 juin 2010	12 juillet 2010	-	32	76	-	-	608	-	-
12 juillet 2010	5 aout 2010	-	-	53	-	-	553	-	-
5 aout 2010	6 septembre 2010	-	-	42	-	-	340	-	-
6 septembre 2010	4 octobre 2010	13	-	49	-	-	426	-	-
4 octobre 2010	2 novembre 2010	10	-	26	-	-	459	-	-
2 novembre 2010	29 novembre 2010	10	-	13	-	-	193	-	-
29 novembre 2010	4 janvier 2011	7	-	4	8	-	89	-	-
4 janvier 2011	31 janvier 2011	10	-	-	8	-	126	-	-
31 janvier 2011	28 février 2011	-	-	11	-	-	144	-	-
28 février 2011	28 mars 2011	-	-	-	-	27	198	-	-
28 mars 2011	26 avril 2011	-	-	15	-	-	205	-	-
26 avril 2011	23 mai 2011	-	-	27	-	-	330	14	-
23 mai 2011	20 juin 2011	-	-	57	-	-	729	-	-
20 juin 2011	21 juillet 2011	-	11	42	-	-	498	-	-
21 juillet 2011	22 aout 2011	-	-	-	-	-	-	-	-
22 aout 2011	19 septembre 2011	-	33	63	-	10	622	-	-
19 septembre 2011	17 octobre 2011	-	-	114	-	-	950	-	22
17 octobre 2011	14 novembre 2011	-	-	81	-	-	623	-	-
14 novembre 2011	12 décembre 2011	-	-	93	-	-	650	-	-

Résultats d'analyse des herbicides anioniques échantillonnés par prélèvements ponctuels

Date	Acétochlore-ESA	Bentazone	Dicamba	Dichlorprop	Glyphosate	MCPP	Métolachlore-ESA	Métolachlore-OA
22 mars 2010	22	21	-	41	-	165	26	-
19 avril 2010	23	22	-	40	-	128	28	10
17 mai 2010	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	N.D.	N.D.	N.D.
17 juin 2010	-	19	-	24	-	77	-	-
12 juillet 2010	29	64	-	117	-	412	30	16
5 aout 2010	21	72	-	110	-	512	25	15
6 septembre 2010	24	76	-	90	-	721	-	21
4 octobre 2010	25	80	-	123	-	606	-	-
2 novembre 2010	22	85	-	124	-	556	-	-
29 novembre 2010	-	-	-	13	-	39	18	-
4 janvier 2011	-	16	-	18	47	103	15	-
31 janvier 2011	-	24	-	30	-	168	26	-
28 février 2011	-	11	-	13	-	90	15	-
28 mars 2011	-	23	-	34	-	219	-	-
26 avril 2011	-	42	-	-	-	305	-	-
23 mai 2011	24	75	-	91	-	593	31	-
20 juin 2011	-	91	-	112	-	738	-	-
21 juillet 2011	-	90	-	83	-	672	-	-
22 aout 2011	30	91	-	108	202	719	-	14
19 septembre 2011	30	96	140	101	-	708	14	18
17 octobre 2011	43	102	209	134	-	911	-	13
14 novembre 2011	27	99	127	108	-	770	-	13
12 décembre 2011	28	70	187	127	-	814	-	16

Résultats d'analyse des pesticides neutres dans les sédiments

Date	Irgarol	Isoproturon	Oxadiazon
22 mars 2010	-	-	-
19 avril 2010	3,9	-	-
12 juillet 2010	0,2	1,1	1,3
29 novembre 2010	-	-	-
26 avril 2011	-	0,3	-
21 juillet 2011	-	0,3	-
17 octobre 2011	-	-	-

N.D. : Non Disponible (difficulté de prélèvement ou analytique)

ANNEXE 21. CONTAMINATION DU LANTON

Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS

Début d'exposition	Fin d'exposition	Alachlore	Azoxystrobine	Hexazinone	Linuron	Métolachlore
22 mars 2010	19 avril 2010	13	10	22	-	63
19 avril 2010	17 mai 2010	14	-	-	-	148
17 mai 2010	17 juin 2010	-	-	-	-	-
17 juin 2010	12 juillet 2010	-	-	25	-	105
12 juillet 2010	5 août 2010	-	-	-	-	-
5 août 2010	6 septembre 2010	-	-	-	-	-
6 septembre 2010	4 octobre 2010	-	-	-	-	-
4 octobre 2010	2 novembre 2010	10	-	-	-	-
2 novembre 2010	29 novembre 2010	-	-	-	-	-
29 novembre 2010	4 janvier 2011	7	-	18	-	40
4 janvier 2011	31 janvier 2011	12	-	31	-	85
31 janvier 2011	28 février 2011	-	-	18	-	132
28 février 2011	28 mars 2011	-	-	10	-	32
28 mars 2011	26 avril 2011	-	-	12	-	40
26 avril 2011	23 mai 2011	-	-	6	11	5
23 mai 2011	20 juin 2011	-	-	10	-	-
20 juin 2011	21 juillet 2011	-	-	8	-	-
21 juillet 2011	22 août 2011	-	-	-	-	-
22 août 2011	19 septembre 2011	-	-	-	-	-
19 septembre 2011	17 octobre 2011	-	-	-	-	-
17 octobre 2011	14 novembre 2011	-	-	-	-	-
14 novembre 2011	12 décembre 2011	-	-	-	-	-

Résultats d'analyse des herbicides anioniques échantillonnés par prélèvements ponctuels

Date	Acétochlore-ESA	Bentazone	Métolachlore-ESA	Métolachlore-OA
22 mars 2010	564	-	941	525
19 avril 2010	563	14	1151	702
17 mai 2010	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
17 juin 2010	540	-	1110	717
12 juillet 2010	527	-	893	355
5 août 2010	474	-	917	408
6 septembre 2010	404	-	795	378
4 octobre 2010	401	-	825	366
2 novembre 2010	244	-	657	264
29 novembre 2010	294	16	1988	1239
4 janvier 2011	373	15	1435	480
31 janvier 2011	473	17	1356	607
28 février 2011	440	20	1780	1077
28 mars 2011	427	13	1216	645
26 avril 2011	330	-	706	40
23 mai 2011	208	-	533	186
20 juin 2011	337	-	880	383
21 juillet 2011	428	-	929	333
22 août 2011	413	-	862	413
19 septembre 2011	454	-	976	460
17 octobre 2011	418	-	946	436
14 novembre 2011	413	-	908	406
12 décembre 2011	422	-	853	388

Résultats d'analyse des pesticides neutres dans les sédiments

Date	Azoxystrobine
22 mars 2010	-
19 avril 2010	0,7
12 juillet 2010	-
29 novembre 2010	-
26 avril 2011	-
21 juillet 2011	-
17 octobre 2011	-

N.D. : Non Disponible (difficulté de prélèvement ou analytique)

Date surlignée : POCIS perdu remplacé par un prélèvement ponctuel en fin d'exposition

ANNEXE 22. CONTAMINATION DU BETEY

Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS

Début d'exposition	Fin d'exposition	Acétochlore	Alachlore	DCPMU	Diuron	IPPU	Métolachlore
22 mars 2010	19 avril 2010	-	14	38	98	-	-
19 avril 2010	17 mai 2010	-	-	24	40	-	-
17 mai 2010	17 juin 2010	-	-	27	31	-	-
17 juin 2010	12 juillet 2010	-	-	61	76	-	-
12 juillet 2010	5 août 2010	-	-	13	32	-	-
5 août 2010	6 septembre 2010	-	-	34	53	-	-
6 septembre 2010	4 octobre 2010	-	11	28	42	-	-
4 octobre 2010	2 novembre 2010	-	-	12	26	-	-
2 novembre 2010	29 novembre 2010	-	7	12	19	-	-
29 novembre 2010	4 janvier 2011	5	-	6	9	-	-
4 janvier 2011	31 janvier 2011	-	-	-	-	-	-
31 janvier 2011	28 février 2011	-	-	-	29	10	-
28 février 2011	28 mars 2011	-	-	-	-	-	-
28 mars 2011	26 avril 2011	-	-	-	20	-	-
26 avril 2011	23 mai 2011	-	-	13	23	-	-
23 mai 2011	20 juin 2011	5	-	-	39	-	-
20 juin 2011	21 juillet 2011	-	-	24	30	-	-
21 juillet 2011	22 août 2011	-	-	-	24	-	-
22 août 2011	19 septembre 2011	-	-	-	24	-	-
19 septembre 2011	17 octobre 2011	-	-	-	20	-	7
17 octobre 2011	14 novembre 2011	-	-	13	29	-	-
14 novembre 2011	12 décembre 2011	-	-	-	43	-	-

Résultats d'analyse des herbicides anioniques échantillonnés par prélèvements ponctuels

Date	Acétochlore-ESA	AMPA	Glyphosate	Mecoprop	Métolachlore-ESA	Métolachlore-OA
22 mars 2010	499	-	-	-	107	-
19 avril 2010	416	-	29	-	113	-
17 mai 2010	N.D.	-	-	N.D.	N.D.	N.D.
17 juin 2010	362	-	-	-	96	-
12 juillet 2010	325	-	-	-	75	-
5 août 2010	260	26	-	-	39	-
6 septembre 2010	307	27	-	-	94	-
4 octobre 2010	318	-	-	-	63	-
2 novembre 2010	168	-	30	-	56	-
29 novembre 2010	241	-	-	-	62	-
4 janvier 2011	440	-	-	-	61	-
31 janvier 2011	325	-	-	8	83	-
28 février 2011	424	-	-	27	106	29
28 mars 2011	339	-	-	11	100	-
26 avril 2011	-	-	-	-	-	-
23 mai 2011	313	-	-	13	154	-
20 juin 2011	183	-	-	11	78	-
21 juillet 2011	180	-	-	9	34	-
22 août 2011	282	-	-	9	42	13
19 septembre 2011	307	-	-	8	64	15
17 octobre 2011	325	-	-	8	100	15
14 novembre 2011	385	-	-	-	96	10
12 décembre 2011	337	-	-	-	46	9

Résultats d'analyse des pesticides neutres dans les sédiments

Aucune contamination détectée

N.D. : Non Disponible (difficulté de prélèvement ou analytique)

Date surlignée : POCIS perdu remplacé par un prélèvement ponctuel en fin d'exposition

ANNEXE 23. CONTAMINATION DU CIRES

Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS

Début d'exposition	Fin d'exposition	Acétochlore	Alachlore	DCPMU	Diuron	Métolachlore
22 mars 2010	19 avril 2010	-	13	-	-	43
19 avril 2010	17 mai 2010	-	-	-	-	97
17 mai 2010	17 juin 2010	-	-	-	-	-
17 juin 2010	12 juillet 2010	-	-	-	15	30
12 juillet 2010	5 août 2010	-	-	-	-	-
5 août 2010	6 septembre 2010	-	-	9	-	-
6 septembre 2010	4 octobre 2010	-	4	-	4	-
4 octobre 2010	2 novembre 2010	-	-	-	-	-
2 novembre 2010	29 novembre 2010	-	13	-	-	30
29 novembre 2010	4 janvier 2011	-	-	-	-	-
4 janvier 2011	31 janvier 2011	-	18	-	-	23
31 janvier 2011	28 février 2011	-	-	-	-	18
28 février 2011	28 mars 2011	-	-	-	-	10
28 mars 2011	26 avril 2011	-	-	-	-	15
26 avril 2011	23 mai 2011	-	-	-	5	11
23 mai 2011	20 juin 2011	-	11	-	8	-
20 juin 2011	21 juillet 2011	8	11	-	10	-
21 juillet 2011	22 août 2011	-	-	-	-	-
22 août 2011	19 septembre 2011	-	-	-	-	-
19 septembre 2011	17 octobre 2011	-	-	-	8	-
17 octobre 2011	14 novembre 2011	-	-	-	10	-
14 novembre 2011	12 décembre 2011	-	-	-	13	-

Résultats d'analyse des herbicides anioniques échantillonnés par prélèvements ponctuels

Date	Acétochlore-ESA	Acétochlore-OA	Bentazone	Métolachlore-ESA	Métolachlore-OA
22 mars 2010	1079	83	42	1077	532
19 avril 2010	1031	100	42	1320	707
17 mai 2010	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
17 juin 2010	863	81	36	1047	579
12 juillet 2010	354	31	12	392	176
5 août 2010	44	-	-	33	17
6 septembre 2010	33	-	-	40	17
4 octobre 2010	29	-	-	22	-
2 novembre 2010	-	-	-	17	-
29 novembre 2010	1414	295	68	2133	1186
4 janvier 2011	845	131	68	1460	656
31 janvier 2011	959	183	148	1344	644
28 février 2011	819	153	156	1498	856
28 mars 2011	641	90	50	1080	592
26 avril 2011	-	-	-	-	-
23 mai 2011	-	-	-	-	-
20 juin 2011	27	-	-	32	15
21 juillet 2011	24	-	-	26	10
22 août 2011	22	-	-	19	-
19 septembre 2011	30	-	-	21	12
17 octobre 2011	30	-	-	-	9
14 novembre 2011	-	-	-	-	-
12 décembre 2011	-	-	-	-	9

Résultats d'analyse des pesticides neutres dans les sédiments

Aucune contamination détectée

N.D. : Non Disponible (difficulté de prélèvement ou analytique)

Date surlignée : POCIS perdu remplacé par un prélèvement ponctuel en fin d'exposition

ANNEXE 24. CONTAMINATION DU CANAL DES ETANGS

Résultats d'analyse des pesticides neutres échantillonnés par POCIS

Début d'exposition	Fin d'exposition	Alachlore	IPPU	Métolachlore
22 mars 2010	19 avril 2010	6	-	7
19 avril 2010	17 mai 2010	-	-	-
17 mai 2010	17 juin 2010	-	-	-
17 juin 2010	12 juillet 2010	-	-	-
12 juillet 2010	5 aout 2010	-	-	-
5 aout 2010	6 septembre 2010	-	4	-
6 septembre 2010	4 octobre 2010	3	-	-
4 octobre 2010	2 novembre 2010	-	-	-
2 novembre 2010	29 novembre 2010	-	-	-
29 novembre 2010	4 janvier 2011	-	-	-
4 janvier 2011	31 janvier 2011	12	-	-
31 janvier 2011	28 février 2011	-	24	-
28 février 2011	28 mars 2011	-	11	-
28 mars 2011	26 avril 2011	-	-	5
26 avril 2011	23 mai 2011	-	-	-
23 mai 2011	20 juin 2011	-	-	-
20 juin 2011	21 juillet 2011	-	-	-
21 juillet 2011	22 aout 2011	-	-	-
22 aout 2011	19 septembre 2011	-	-	-
19 septembre 2011	17 octobre 2011	-	-	-
17 octobre 2011	14 novembre 2011	-	-	-
14 novembre 2011	12 décembre 2011	-	-	-

Résultats d'analyse des herbicides anioniques échantillonnés par prélèvements ponctuels

Date	Acétochlore-ESA	Acétochlore-OA	Métolachlore-ESA	Métolachlore-OA
22 mars 2010	289	14	387	194
19 avril 2010	259	18	372	171
17 mai 2010	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
17 juin 2010	233	14	289	138
12 juillet 2010	116	-	108	50
5 aout 2010	125	-	54	29
6 septembre 2010	81	-	64	-
4 octobre 2010	133	-	64	25
2 novembre 2010	80	-	58	-
29 novembre 2010	160	14	435	146
4 janvier 2011	143	11	273	107
31 janvier 2011	198	22	470	113
28 février 2011	163	13	274	154
28 mars 2011	166	11	340	189
26 avril 2011	115	-	197	108
23 mai 2011	157	-	147	74
20 juin 2011	105	-	110	63
21 juillet 2011	104	-	52	-
22 aout 2011	129	-	69	35
19 septembre 2011	153	-	77	39
17 octobre 2011	65	-	30	13
14 novembre 2011	136	-	88	45
12 décembre 2011	139	10	172	96

Résultats d'analyse des pesticides neutres dans les sédiments

Date	Hexazinone
22 mars 2010	-
19 avril 2010	-
12 juillet 2010	-
29 novembre 2010	3,4
26 avril 2011	-
21 juillet 2011	-
17 octobre 2011	-

N.D. : Non Disponible (difficulté de prélèvement ou analytique)

Date surlignée : POCIS perdu remplacé par un prélèvement ponctuel en fin d'exposition

ANNEXE 25. VALORISATIONS

Rapport

« Etalonnage des échantillonneurs passifs du type POCIS pour des pesticides polaires »
Nicolas Mazzella, Catherine Bertho, Vincent Fauvelle, Cécile Miège, Nicolas Morin, Anne
Togola
Décembre 2012

Colloques (: orateur)*

6th Européan conférence on pesticides and related organic micro-pollutants in the
environment : « Comparison between classic reverse phase liquid chromatography and
hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) for acidic pesticides analysis »
Vincent Fauvelle*, Nicolas Mazzella, François Delmas, Hélène Budzinski
Communication orale, septembre 2010

4rd International Passive Sampling Workshop and Symposium : « One year pesticide
monitoring in the Arcachon Bay and its main tributaries (western coast of France), use and
adjustment of POCIS »
Vincent Fauvelle* & Angel Belles, Nicolas Mazzella, Sophie Cao, Hélène Budzinski
Communication orale, mai 2011

Groupement français des pesticides 2011: « Suivi de la contamination des tributaires du
Bassin d’Arcachon par les pesticides et tests écotoxicologiques sur diatomées »
Vincent Roubeix & Vincent Fauvelle, Nicolas Mazzella, Hélène Budzinski, François Delmas*
Communication orale, mai 2011

7th European conference on pesticides and related organic micro-pollutants in the
environment : « Evaluation and modification of the POCIS for the monitoring of both neutral
and acidic pesticides into the tributaries of the Arcachon's Bay »
Vincent Fauvelle, Nicolas Mazzella*, François Delmas, Mélissa Eon, Hélène Budzinski
Communication orale, octobre 2012

Articles publiés

« Variations of periphytic diatom sensitivity to the herbicide diuron and relation to species distribution in a contamination gradient: Implications for biomonitoring »

Vincent Roubeix, Nicolas Mazzella, Laurie Schouler, Vincent Fauvelle, Soizic Morin, Michel Coste, François Delmas, Christelle Margoum

Journal of Environmental Monitoring, volume 13, p.1768-1774, 2011

« Liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method for thirty-three pesticides in natural water and comparison of performance between classical solid phase extraction and passive sampling approaches »

Sophie Lissalde, Mazzella Nicolas, Vincent Fauvelle, François Delmas, Patrick Mazellier, Bernard Legube

Journal of Chromatography A, volume 1218, p.1492-1502, 2011

« Assessing the impact of chloroacetanilide herbicides and their metabolites on periphyton in the Leyre River (SW France) *via* short term growth inhibition tests on autochthonous diatoms »

Vincent Roubeix, Vincent Fauvelle, Juliette Tison-Rosebery, Nicolas Mazzella, Michel Coste, François Delmas

Journal of Environmental Monitoring, volume 14, p.1655-1663, 2012

« Use of mixed mode ion exchange sorbent for the passive sampling of organic acids by polar organic chemical integrative sampler »

Vincent Fauvelle, Nicolas Mazzella, François Delmas, Karine Madarassou, Mélissa Eon, Hélène Budzinski

Environmental Science & Technology, volume 46, P.13344-13453, 2012

Articles en préparation

« Comparison between classic reversed phase and hydrophilic interactions liquid chromatography for freshwater acidic herbicides analysis »

Vincent Fauvelle, Nicolas Mazzella, François Delmas, Brigitte Delest, Hélène Budzinski
En préparation

« Optimization of Polar organic chemical integrative sampler and Diffusive gradient in thin-film for the sampling of organic acids »

Vincent Fauvelle, Angel Belles, Aurélie Moreira, François Delmas, Nicolas Mazzella, Hélène Budzinski

En préparation