

Direction de l'Environnement et de l'Aménagement Littoral  
Département Polluants Chimiques

Jacek TRONCZYNSKI, Karine MOISAN  
Gilles BOCQUENE, Pierre MAGGI, James GRISON

Decembre 1999



**Ifremer**

---

# Etude des zones côtières exposées à la contamination par les produits phytosanitaires

Rapport d'étude

RAPPORT D'ETUDE

ETUDE DES ZONES COTIERES EXPOSEES A LA CONTAMINATION PAR LES  
PRODUITS PHYTOSANITAIRES

J. Tronczynski et K. Moisan

Et

G. Bocquené, P. Maggi et J. Grizon

IFREMER

Direction de l'environnement et de l'aménagement littoral  
Département des polluants chimiques

Décembre 1999

## Table des matières

1. PRÉSENTATION DE L'ÉTUDE ET RAPPEL DES OBJECTIFS .....	3
A. ETUDE DE LA CONTAMINATION CHIMIQUE.....	4
2. SITES D'ÉTUDE ET BILANS DE PRÉLÈVEMENTS .....	4
2.1. BAIE DE BOURGNEUF .....	4
2.2. BAIE DE L'AIGUILLON .....	5
3. COMPOSÉS ÉTUDIÉS.....	5
3.1. PROTOCOLE ANALYTIQUE.....	7
3.2. ASSURANCE ET CONTRÔLE DE QUALITÉ.....	7
4. CONTAMINATION CHIMIQUE PAR DES PRODUITS PHYTOSANITAIRES .....	7
4.2. COMPARAISON AVEC DES LISTES RÉGIONALES .....	10
4.3. RECHERCHE DES COMPOSÉS DANS LES SÉDIMENTS.....	12
4.4. NIVEAUX DES CONCENTRATIONS DES PESTICIDES DISSOUS .....	13
5. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	16
6. TABLEAUX.....	17
7. FIGURES.....	21
B. COMPARAISON DES NIVEAUX DE CHOLINESTERASES SUR LES MOULES DE DEUX ZONES COTIÈRES SENSIBLES DANS LA RÉGION DES PAYS DE LA LOIRE: LA BAIE DE L'AIGUILLON ET LA BAIE DE BOURGNEUF	
8. LES CHOLINESTÉRISE: BIOMARQUEURS D'EFFETS NEUROTOXIQUES DES CONTAMINANTS .....	25
9. LOCALISATION DES ZONES D'ÉTUDE .....	25
9.1. ÉCHANTILLONNAGE .....	26
10. MÉTHODE ANALYTIQUE DE MESURE DES CHOLINESTÉRISES:.....	26
11. RÉSULTATS ET DISCUSSION: .....	27
11.1. SIGNIFICATION ÉCOTOXICOLOGIQUE DES VARIATIONS D'ACTIVITÉ AChE:.....	30
12. BIBLIOGRAPHIE .....	32

## 1. Présentation de l'étude et rappel des objectifs

Le présent rapport est relatif aux travaux effectués à la Direction de l'Environnement et de l'Aménagement du Littoral dans le Département des Polluants Chimiques (DEL/PC) au Centre de l'IFREMER à Nantes. Cette étude a été réalisée dans le cadre de l'activité de la Cellule Régionale d'Étude des Pollutions Chimiques des Eaux par les Produits Phytosanitaires (CREPEPP) des Pays de la Loire. Un premier sondage de la contamination des eaux et des sédiments par les produits phytosanitaires et les mesures de l'activité des cholinestérases dans les mollusques marins a été effectué sur deux zones conchyliennes de la région des Pays de la Loire : la baie de l'Aiguillon et la Baie de Bourgneuf.

Les objectifs spécifiques proposés ont été les suivants :

- ◆ Réaliser un premier sondage analytique sur l'identification des produits phytosanitaires présents dans les eaux et les sédiments de quatre stations côtières situées dans les baies de Bourgneuf et de l'Aiguillon ;
- ◆ Déterminer les niveaux des concentrations des pesticides ciblés ;
- ◆ Établir les réponses neurotoxiques grâce aux mesures de l'activité des cholinestérases sur des mollusques marins vivant dans des zones d'apport ;
- ◆ Effectuer une première comparaison entre les données de contamination et d'effets toxiques sur les sites étudiés.

Le rapport est divisé en deux parties présentant les résultats d'étude de la contamination chimique (partie A) et l'étude des réponses biologiques (partie B).

## A. Etude de la contamination chimique

### 2. Sites d'étude et bilans de prélèvements

#### 2.1. Baie de Bourgneuf

Le bassin versant de la baie de Bourgneuf peut être découpé en 5 sous-bassins : celui du canal de haute Perche (135 km<sup>2</sup>), de Falleron (400 km<sup>2</sup>), de Sallertaine (190 km<sup>2</sup>), de Taillée (130 km<sup>2</sup>) et de Noirmoutier (50 km<sup>2</sup>). Les exutoires de ces unités hydrologiques sont pour la plupart régulés par des vannes permettant une gestion des eaux des marais via de nombreux étiers. En aval, le fonctionnement hydraulique des marais est régulé en fonction des besoins en eau, en gérant pour l'essentiel les entrées des eaux marines, leurs stockages et le maintien du niveau. En amont, les écoulements sont principalement fonction des apports pluviaux et de l'alimentation artificielle par des eaux de la Loire (le cas de Falleron).

Les prélèvements des échantillons d'eau et de sédiments pour les analyses des produits phytosanitaires ont été effectués en juin 1998. La répartition géographique des cinq points de prélèvements est présentée à la figure 1 et les conditions générales correspondantes sont rassemblées dans le tableau 1 (salinités, MES, les teneurs en carbone organique dissous COD, et les résultats d'analyse élémentaire de la matière organique particulaire: le carbone, l'hydrogène et l'azote organiques C/H/N). Ces prélèvements correspondent au bassin versant du Falleron (stations BB-1 et BB-2) et à ceux de Sallertaine et Taillée (stations BB-3 à BB-5). Les eaux des salinités élevées (supérieure à 33) ont été collectées sur les trois sites de Falleron (BB-1), de Sallertaine (BB-3) et de la Taillée Aval (BB-5) et les eaux quasiment douces (S = 0,68) et saumâtres (S = 9,16) ont été collectées sur le site de Fresnes (BB-2 écluse du Falleron) et dans la Taillée Amont au pont du Vivier respectivement (Tableau 1). Les eaux de fortes salinités ont été adjacentes aux exutoires des étiers indiquant ainsi qu'il n'y avait pratiquement pas de gradients de salinités dans ces eaux. En effet, la fermeture des vannes et les faibles apports directs en eaux douces dans la baie pour cette période de l'année provoquent cette situation. Il convient de rappeler également que l'échantillonnage a été mené à la marée descendante en période de coefficient de marée entre 83 et 73. Par ailleurs, les eaux côtières du Falleron et de la Taillée se caractérisent par de fortes teneurs en matières en suspensions (MES d'environ

de 230 mg/L), celles de Fresnes et d'étier de Sallertaine en contiennent environ 50 mg/L et celles de la Taillée Amont seulement 4 mg/L. Cette dernière station se distingue par une forte concentration en carbone organique dissous et une forte teneur de la fraction organique des particules en suspensions (32 % du COP) probablement d'origine algale. Finalement, un échantillon de sédiment a été prélevé sur le site du Falleron.

## **2.2. Baie de L'Aiguillon**

Les bassins versants des trois fleuves côtiers du Lay (2000 km<sup>2</sup>), de la Sèvre Niortaise (3400 km<sup>2</sup>) et du Curé (315 km<sup>2</sup>) constituent l'essentiel du bassin versant de la baie de l'Aiguillon. Le Lay présente un débit moyen de 8,73 m<sup>3</sup>/s et la Sèvre Niortaise présente un débit moyen de 11,6 m<sup>3</sup>/s. Les réseaux hydrographiques complexes s'organisent en marais (marais Poitevin) découpés par de multiples chenaux qui assurent et régulent les échanges hydriques avec la mer. Les bilans hydriques sont nettement excédentaires en hiver et déficitaires en été.

Les prélèvements d'échantillons d'eau (juin 1998) ont été répartis en fonction des trois bassins versants (figure 2), aux exutoires du Lay (BA-4), de la Sèvre Niortaise (BA-1) et du Curé (BA-3). Deux prélèvements supplémentaires se situent dans la baie à la pointe des Landes (BA-2) et au niveau des bouches de la Barrique (BA-5) (figure 2 et tableau 2). Les sédiments ont été collectés en juin 1998 sur les deux sites BA-1 et BA-2. Les eaux de fortes salinités (supérieures à 30) ont été prélevées sur les trois stations (BA-2, 4 et 5, tableau 2). La station BA-1 de la Sèvre Niortaise correspond à la zone de mélange ( $S = 15,71$ ) et la station BA-3 aux eaux très faiblement salines ( $S = 0,60$ ) du Curé. Les fortes concentrations en MES ont été déterminées dans la baie (station BA-2 et BA-4) et en zone de mélange de la Sèvre. Les concentrations en MES plus faibles de 30 et 47 mg/L ont été déterminées dans le Curé et aux bouches de la Barrique respectivement. Le niveau du carbone organique dissous est plus élevé dans le Curé ( $COD = 3,9$  mg/L) et nettement moins fort plus au large sur la station de la Barrique ( $COD = 1,5$  mg/L). Les teneurs en carbone organique particulaire des MES varient entre 1,4 à 2,8 % sur l'ensemble des sites de la baie de l'Aiguillon.

## **3. Composés étudiés**

Les composés dissous ont été recherchés dans les eaux de deux baies après une filtration des échantillons sur les filtres en fibres de verres de 0,7 µm et après une extraction liquide solide de grands volumes d'échantillons d'eau (environ 20 L). La désorption des composés

retenus par la phase solide s'effectue avec des solvants organiques appropriés. Les composés associés aux sédiments ont été recherchés dans les extraits organiques obtenus par sonication et après un fractionnement en cinq fractions à polarité croissante.

Pour identifier les pesticides dans ces échantillons deux démarches ont été adoptées dans cette étude. D'une part, une recherche systématique des composés chimiques<sup>1</sup> ciblés a été conduite. Les solutions d'étalons de ces composés ont été préparées au laboratoire à partir des substances pures. L'identification et la détermination des concentrations des composés ont été menées par comparaison des résultats d'analyses des solutions d'étalons et des échantillons en chromatographie en phase gazeuse (CPG) avec le détecteur spécifique thermoionique (TSD ou NPD) et deux colonnes capillaires à polarités différentes. La CPG couplée à la spectrométrie de masse a été utilisée pour une confirmation d'identification par la CPG-TSD. La liste complète des produits recherchés est présentée dans le tableau 3. En général, un composé recherché mais non détecté dans les échantillons, indique qu'il n'a pas été présent à un niveau au-dessus de sa limite de détection.

D'autre part, le dépistage des produits phytosanitaires dans les eaux côtières des baies de Bourgneuf et de l'Aiguillon a été mené en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en mode d'ionisation par l'impact électronique (CPG-SM-EI) sur les échantillons sélectionnés. Cette démarche permet d'identifier éventuellement la présence de produits non ciblés. Ainsi, certaines matières actives auront pu être identifiées dans les échantillons. L'inventaire des composés identifiés est également dressé dans le tableau 3. Cependant, il convient de préciser que l'inventaire des produits phytosanitaires de la présente étude n'est pas exhaustif, même si les méthodes multi-résidus ont été utilisées. En fait, la détection des substances phytosanitaires dissoutes est limitée par les contraintes inhérentes au protocole analytique utilisé (principalement extractions et techniques de détection). Par exemple, les herbicides du groupe des phényles urées n'ont pas pu être détectés par les protocoles employés. Pareillement, les six derniers composés sur la liste du tableau 3 exigent a priori des protocoles spécifiques et une vérification de la précision et de l'exactitude des protocoles analytiques. Cette vérification est également nécessaire pour des composés identifiés par la CPG-SM mais qui ne figuraient pas sur la liste des composés ciblés. En d'autres termes,

---

<sup>1</sup> Le terme « composés chimiques » fait référence dans le présent rapport aux matières actives phytosanitaires recherchées, telles que par exemple l'atrazine, le tebutame, etc. Pour décrire les composés étudiés on utilise également d'autres termes : produits, substances, molécules, contaminants. Les termes génériques des matières actives correspondent aux composés chimiques spécifiques (voir par exemple dans l'Index phytosanitaire 1998).

l'analyse pour ces composés n'est que qualitative et leurs concentrations dans les eaux des deux baies n'ont pas été déterminées. Les extraits organiques des échantillons collectés ont été conservés et peuvent éventuellement être réanalysés pour d'autres types de composés.

### **3.1. Protocole analytique**

Les méthodes analytiques de dosage de contaminants organiques utilisées dans le présent programme ont été mises au point au laboratoire de l'Ifremer DEL/PC et ont fait l'objet d'exercices d'inter-comparaisons internationaux (CIEM, MEDPOL, programme européen FAME-DG XII). À l'annexe 4 du rapport sont décrits : une séquence analytique générale, les techniques des prélèvements, les méthodes analytiques spécifiques utilisées, les procédures de la quantification et les résultats d'évaluation des performances de la méthode analytique.

### **3.2. Assurance et contrôle de qualité**

Le protocole d'assurance et de contrôle de qualité des analyses des produits phytosanitaires dans le cadre du présent programme consiste en : un contrôle de la propreté et de la qualité du matériel de prélèvements et de la verrerie du laboratoire (c'est-à-dire les fréquentes analyses des blancs); l'utilisation pour chaque échantillon d'un étalon interne de rendement d'extraction ; la quantification dans le domaine de la réponse linéaire du détecteur thermoïonique (NPD/TSD) ; l'utilisation systématique des deux colonnes analytiques en CPG, la calibration de la réponse du détecteur lors des analyses des échantillons ; et la confirmation de l'identification des composés par la spectrométrie de masse. Les blancs des solvants sont réalisés périodiquement au laboratoire. Quelques résultats de l'assurance et du contrôle de la qualité sont présentés à l'annexe 4 du rapport. L'assurance et le contrôle de qualité des résultats sont indispensables pour évaluer les performances des méthodes analytiques et les performances des laboratoires et pour assurer la qualité et la comparabilité des résultats.

## **4. Contamination chimique par des produits phytosanitaires**

Ce paragraphe décrit l'inventaire des composés identifiés et présente les niveaux des concentrations qui ont été déterminées pour certains de ces composés.



#### 4.1. Inventaire des composés dissous identifiés

Les travaux d'inventaire ont pour but de dresser une liste des pesticides présents dans les eaux et dans les sédiments des deux baies de Bourgneuf et de l'Aiguillon. Cette démarche concerne les composés majeurs dont les niveaux sont plus élevés et qui sont extractibles et analysables par les techniques analytiques utilisées (CPG-TSD et CPG-SM). Ce sondage analytique de dépistage des pesticides est une première étape avant une analyse quantitative qui mène à la détermination des concentrations des composés dans l'eau. Il est ponctuel (échantillonnage limité) et à ce titre aussi, il ne peut pas être considéré comme exhaustif. Pour un nombre de composés les résultats restent donc qualitatifs. Il convient de préciser que l'analyse quantitative des nombreux pesticides exige des protocoles analytiques validés autrement et engendre des coûts très élevés pour les laboratoires. Par ailleurs, les résultats montrent que le dépistage et l'identification formelle des contaminants organiques dans l'environnement représentent aussi des difficultés analytiques considérables.

Dans le tableau 3 sont identifiés, par site, les composés dissous qui ont été détectés dans les eaux des deux baies. Quelques exemples des chromatogrammes d'étalons correspondants (CPG-TSD) et des chromatogrammes d'échantillons sont présentés à l'annexe 1. Les spectres de masses de certains composés figurent à l'annexe 3. La majorité des pesticides identifiés sont des herbicides et des fongicides, parmi lesquels certains sont présents de façon omniprésente (présents dans les eaux de tous les sites étudiés dans les deux baies). C'est le cas de trois composés de la famille des chlorotriazines : l'**atrazine**, la **simazine** et la **terbuthylazine** et de deux de leurs produits de dégradation : la **dééthylatrazine - DEA** et la **déisopropylatrazine – DIA**. Deux herbicides de la famille acétanilides : le **métolachlor** et l'**alachlore** (principalement utilisés sur le maïs, le tournesol et le soja) sont aussi présents presque dans tous les échantillons. Le **lindane**, insecticide organochloré utilisé principalement en traitement des céréales, est aussi présent dans les eaux des deux baies. La présence ubiquiste du lindane en milieu marin est en effet bien documentée dans la littérature scientifique.

D'autres produits phytosanitaires à l'état dissous ont également été formellement identifiés par l'analyse en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Cependant, leur présence n'a pas été observée sur tous les sites (tableau 3).

En baie **Bourgneuf** la majorité des produits ont été identifiés sur le Falleron amont à la station d'écluse de Fresnes (BB-2). Ce sont : le **carbofuran** (un insecticide/nematicide de la famille des carbamates avec un large spectre d'utilisation), le **terbumeton** (herbicide de la famille des méthoxytriazines) ainsi qu'un herbicide d'une autre famille chimique, le **diflufénicanil** (famille des phénoxyntolanilides, utilisé sur les cultures céréalières). D'autres fongicides ont été identifiés, soient : le **tebuconazole** (famille de triazoles, utilisé entre autres sur le blé, l'orge, le colza et la vigne), le **métalaxyle** (famille des phenylamides, utilisé sur la vigne, la pomme de terre, le tournesol) et l'**oxadixyl** (famille chimique des oxazolidiones, utilisé sur la vigne, la pomme de terre, les cultures maraîchères, les pois). Le **chlorfenvinfos**, un insecticide organophosphoré (utilisé sur la pomme de terre et l'asperge) a été également identifié. La présence de tous ces produits a été déterminée seulement à la station de Fresnes. Par contre, trois composés ont été identifiés sur d'autres sites, soient la **propazine** (de la famille de chlorotriazines, dont l'usage n'est pas bien défini), le **fenpropidine**, un fongicide de la famille chimique des pipéridines (utilisé sur le blé et l'orge) et un herbicide, l'**oxadiazon** (famille des oxadiazoles, utilisé sur la vigne, les arbres fruitiers, le tournesol). Par ailleurs, un herbicide de la famille des methylthiotriazines - l'**irgarol** utilisé en tant qu'agent antisalissure dans la peinture de bateau, a été détecté dans les eaux de la baie de Bourgneuf sur deux sites aval du Falleron et de la Taillée (voir les chromatogrammes à l'annexe 1). Finalement, un produit chimique d'origine industriel, le **tributhyl-phosphate TBP** (plastifiant, agent anti-mousse, diélectrique, etc.) a été présent à l'état dissous dans tous les échantillons des deux baies. L'ensemble des résultats d'identification des produits phytosanitaires dissous dans les eaux de la baie de Bourgneuf montre la présence commune de certains composés mais également quelques différences par sites, sans doute liées aux différents apports provenant de l'amont des bassins versants. Un nombre nettement moins important de composés, présents dans les eaux à l'aval du Falleron ainsi qu'à l'amont (station d'écluse de Fresnes) indique probablement des apports relativement faibles et limités dans le temps de certains composés et/ou leurs dégradations rapides.

L'examen des résultats d'analyses d'identification des produits phytosanitaires dans la **baie de l'Aiguillon** révèle aussi quelques différences par sites d'étude. Ainsi les eaux du canal de Curé et l'estuaire de la Sèvre Niortaise contiennent plus de produits détectés. On y identifie quelques autres produits, différents de ceux présents dans la baie de Bourgneuf. Ce sont des herbicides : **tebutame** (famille des amides, utilisé sur le colza), **bromoxynil** (utilisé principalement sur le maïs), **oxadiazon** (famille des oxadiazoles, utilisé sur la vigne,

les arbres fruitiers, le tournesol) et **métazachlore** (famille des acétanilides, utilisé sur le colza) et deux fongicides de la famille des triazoles : le **flusilazole** (utilisé entre autres sur la vigne et les céréales) et **propiconazole** (utilisé principalement sur le blé et l'orge). Au total, les vingt-cinq composés chimiques dissous ont été identifiés dans les eaux des deux baies.

#### 4.2. Comparaison avec des listes régionales

Une liste préliminaire régionale (Pays de la Loire) des substances actives à rechercher prioritairement dans les eaux a été proposée dans le cadre de la CREPEPP. Cette liste a été établie en utilisant les résultats d'une première enquête d'estimation des quantités des produits phytosanitaires appliqués en région des Pays de la Loire et une méthode de calcul de rangs (SIRIS) pour le classement des substances actives. Il est intéressant de comparer les résultats de la présente étude de dépistage des matières actives aux exutoires de bassins versants (des baies de Bourgneuf et d'Aiguillon) avec cette liste régionale. On constate ainsi que la plupart des composés qui ont été présents dans les deux baies et détectés sur tous les sites d'échantillonnage figurent sur cette liste régionale. Ce sont : l'alachlore, l'atrazine, la simazine, la terbuthylazine et le lindane. Par contre, les trois composés également présents sur tous les sites étudiés : le métolachlor et les deux produits de dégradation le dééthylatrazine (DEA) et déisopropylatrazine (DIA) ne se trouvent pas sur cette liste. Par ailleurs, un nombre important des composés qui ont été détectés seulement dans les eaux des sites les plus contaminés des baies de Bourgneuf et de l'Aiguillon (écluse de Fresnes et le Curé) ne figurent pas sur la liste. Ce sont : le bromoxynil, le tebutame, le carbofuran, la propazine, le métalaxyle, l'oxadiazon, le propiconazole, le tebuconazole, le diflufénicanil, l'oxadixyl, le metazachlor et le chlorfenvinfos. Finalement, on remarque quelques composés qui sont sur la liste régionale et qui n'ont pas été détectés dans nos échantillons parmi lesquels : le captane, la trifluraline, le pendiméthalin, le bromacil et le prochloraz (ces composés auraient a priori pu être détectés par la technique analytique employée) ainsi que les composés qui ne pouvaient être détectés par notre protocole et qui exigent des méthodes analytiques spécifiques : l'aldicarbe, l'aminotriazole, le diuron, l'isoproturon, le linuron et le chlortoluron.

Les quantités des matières actives utilisées sur les bassins versants des Marennes-Oléron ont été estimées (source DRAF/SRPV). Selon ce recensement (1996-97) sur l'ensemble du bassin versant de la Sèvre Niortaise et du Curé, les dix premières matières actives les plus épandues sont dans l'ordre : **atrazine**, trifluraline, **alachlor**, chlortoluron, chlorothalonil,

isoproturon, **métolachlore**, mecorop, aclonifen et **lindane** parmi lesquelles quatre (en caractères gras) ont été détectées dans les eaux du Curé. Comme précédemment, on considère qu'au moins le trifluraline et le chlorothalonil auraient pu être détectés par le protocole analytique employé dans la présente étude. Leur absence dans les échantillons suggérerait une dégradation rapide. Par ailleurs, il est à noter que trois des composés identifiés dans les eaux du Curé - oxadiazon, propiconazole et oxadixyl - , ne figurent pas parmi les 72 matières actives recensées sur le bassin versant. D'autres substances identifiées dans les eaux du Curé et recensées sont : bromoxynil, diflufénicanil, fusilazole, métazachlore (pas de quantité utilisée), simazine, tebutame et terbuthylazine (pas de quantité utilisée).

En conclusion, l'ensemble des résultats montre le besoin de travaux de dépistage analytique des pesticides dans les eaux. Ces travaux devraient contribuer à l'établissement des listes de substances actives phytosanitaires à surveiller dans les eaux superficielles en priorités (Readman et al. 1993a et 1993b ; Tronczynski *et al.* 1993). En effet, la révision périodique de ces listes est prévue pour tenir compte de l'évolution des connaissances et notamment de l'acquisition de nouveaux résultats de la surveillance des eaux. Dans la présente étude, la détection de composés chimiques dissous dans les eaux côtières qui ne figurent pas sur les listes régionales fournit à cet égard des éléments utiles. Par ailleurs, la détection de nombreux composés chimiques dissous dans les eaux de la frange côtière des baies de Bourgneuf et de l'Aiguillon et aux exutoires de leurs bassins versants indique a priori une contamination à l'amont par ces substances autrement plus importante. Les pesticides détectés dans les eaux côtières peuvent généralement être considérés comme persistants et mobiles dans l'environnement naturel (Adams & Thurman 1991 ; Tronczynski 1992 ; Munsch 1995). On constate également que l'identification formelle des composés chimiques à l'état de traces dans l'environnement nécessite le croisement de différentes conditions et techniques analytiques. Ces analyses sont réalisées en plusieurs étapes et exigent un équipement sophistiqué. Le développement de nouvelles pratiques au sein des laboratoires commerciaux, l'utilisation de la spectrométrie de masse pour l'identification des composés, ainsi que l'élaboration de nouveaux protocoles et de schémas analytiques devront être encouragés.

Finalement, l'identification dans les eaux côtières de la présence d'un mélange complexe de biocides agricoles reconnus comme toxiques soulève la question de la mise en évidence des effets biologiques précoces et, de façon générale, de l'évaluation des risques

écologiques liés à une contamination spécifique. Les propriétés toxiques de certains des composés identifiés pris individuellement et comme un mélange constituent un potentiel toxicologique difficile à cerner. Les résultats d'étude d'une réponse neurotoxique des mollusques marins sont présentés dans la deuxième partie de ce rapport.

#### **4.3. Recherche des composés dans les sédiments**

La recherche des pesticides dans des sédiments marins a été menée par l'analyse CPG couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Les analyses ont été réalisées sur les extraits organiques séparés en cinq fractions de polarité croissante par chromatographie d'adsorption sur une colonne d'alumine et de silice. Ce fractionnement permet une séparation fine des composés en mélanges moins complexes facilitant une détection des composés à l'état de traces.

Aucun pesticide n'a été détecté dans les sédiments fins collectés dans la baie de Bourgneuf (une station de Falleron, voir figure 1) et dans la baie de l'Aiguillon (deux stations Sèvre Niortaise et la pointe des Landes, figure 2). Les spectrogrammes (courants ioniques totaux) des cinq fractions (F1 à F5, sédiments de Falleron et de Sèvre Niortaise) et d'un mélange d'étalons des pesticides sont présentés et comparés à l'annexe 2. L'absence des herbicides triazines ou des acétanilides dans les sédiments marins corrobore des résultats précédents qui montrent que ces composés se trouvent à plus de 99 % sous forme dissoute en milieu aqueux. C'est le cas de nombreux autres pesticides dont l'usage est actuellement très important. Cependant, la recherche ciblée des composés plus hydrophobes devrait également être réalisée.

L'analyse par le CPG-SM des extraits organiques des sédiments révèle la présence de nombreux composés organiques d'origines biogénique et anthropique. Succinctement, la fraction F1 est dominée par la présence des hydrocarbures aliphatiques (n-alcane), la fraction F2 est dominée par la présence des hydrocarbures aromatiques polycycliques et d'un mélange d'hydrocarbures naturels, la fraction F3 est dominée par les acides gras saturés, insaturés, ramifiés et à longues chaînes (d'origines planctoniques, végétaux supérieurs terrestres et microbiennes) la fraction F4 présente un mélange d'acides gras, d'alcools, d'alcynes, et de stéroles et, finalement, la fraction F5 contient entre autres des produits de la dégradation des pigments et des stéroles.

#### 4.4. Niveaux des concentrations des pesticides dissous

La détermination des niveaux des concentrations des pesticides dissous et de leur répartition géographique renseignent sur les sources de cette contamination chimique dans les baies de Bourgneuf et de l'Aiguillon. Dans les tableaux 4 et 5 sont présentés les résultats des concentrations des composés dont la quantification était possible. Les figures 3 et 4 illustrent les niveaux des concentrations par site dans chaque baie.

**Dans la baie de Bourgneuf**, l'examen des niveaux de concentrations pourrait se faire par rapport aux niveaux déterminés à l'amont dans la Loire et à l'aval dans les eaux côtières dans le panache de la Loire. Cette comparaison est doublement intéressante : d'une part la Loire constitue l'apport principal en eau douce et par conséquent, en substances chimiques dissoutes en zone côtière de la baie de Bourgneuf. Elle constitue aussi en période de déficit, une source d'alimentation artificielle en eau des marais (le Falleron). D'autre part, les données de l'aval permettent de fixer des niveaux de concentrations de référence pour la baie. On dispose de données pour la Loire obtenues pendant une année à la station de Montjean, (Etude d'évaluation des flux de produits phytosanitaires apportés par la Loire à l'estuaire, Tronczynski & Moisan 1999), et des données de la campagne océanographique ZHED réalisée en février 1999 au large de la baie de Bourgneuf dans le panache de la Loire (voir la carte de prélèvements, figure 1).

Dans la baie de Bourgneuf les plus fortes concentrations en herbicides dissous (atrazine, simazine, terbuthylazine, alachlore) ont été déterminées sur le site de Fresnes (Falleron amont, tableau 4). Les niveaux de la simazine et de la terbuthylazine sont particulièrement élevés (276 ng/L et 432 ng/L respectivement, prélèvement du 15 juin 1998 à Fresnes). Ces niveaux comparés à ceux de la Loire apparaissent effectivement nettement plus élevés (37 ng/L de simazine et 17 ng/L de terbuthylazine, prélèvement du 17 juin 1998 à Montjean, tableau 4). Ceci semble indiquer l'existence d'une source locale pour ces deux herbicides. Par contre, les concentrations de l'atrazine et de l'alachlore sur cette station sont du même ordre de grandeur que celles de la Loire pour la même période de juin 1998. Les concentrations plus élevées de la simazine (70 ng/L) et de l'atrazine (95 ng/L) ont également été déterminées dans les eaux saumâtres de la Taillée amont (salinité de 9,16). En revanche, à l'aval dans les eaux adjacentes des trois bassins versants de la baie on enregistre de faibles concentrations en herbicides dissous en juin 1998. Les niveaux varient

entre 5 et 8 ng/L pour la simazine, entre 8 et 9 ng/L pour l'atrazine et entre 4 et 6 ng/L pour la terbuthylazine. Ces eaux se caractérisent par de fortes salinités (de 33,39 à 34,16). On remarque que les fortes concentrations des herbicides trouvées à l'amont aux exutoires des bassins versants ne parviennent pas à se singulariser dans les eaux de la frange côtière de la baie de Bourgneuf. Ceci suggère que les apports en herbicides se trouvent rapidement dilués dans la baie. Il est intéressant de noter que les concentrations de la DEA dans les eaux côtières sont supérieures à celles de l'atrazine, ce qui suggère des apports en DEA récents et importants.

Par ailleurs, une comparaison avec les concentrations aval, déterminées en février 1999 c'est-à-dire hors période d'épandage de ces herbicides et dans les masses d'eaux à la salinité équivalente (exemple ZHED 15, S = 33,34, tableau 4) révèle des concentrations seulement légèrement plus faibles que celles du mois juin 1998. Il semble donc que les apports locaux sont effectivement soumis à une forte dilution dans la baie. Cependant, pour une évaluation de ces apports, un échantillonnage régulier annuel est nécessaire (Tronczynski et Moisan 1996).

L'identification et les concentrations de l'irgarol sont communiquées à titre d'information (tableau 4 et figure 3). Cet herbicide de la famille des méthylthiotriazines, utilisé en tant qu'agent antisalissure dans des peintures de bateaux, a été détecté dans les eaux côtières de la baie. Il semble que la source de cette contamination se trouve en effet dans les zones de mouillages du Falleron et de la Taillée.

**Dans la baie de l'Aiguillon** les fortes concentrations en herbicides dissous ont été enregistrées dans le Curé et sur la station de la Sèvre Niortaise (tableau 5 et figure 4). Sur ces deux stations les concentrations de 145 et 73 ng/L en atrazine ont été suivies par celles de la DEA de 58 et 35 ng/L. On note également dans le Curé et la Sèvre Niortaise des niveaux significatifs de métolachlor et les plus faibles en alachlore. Il est à noter que selon le recensement 1996-97, la quantité d'alachlore utilisé sur leurs bassins versants est nettement plus importante que celle du métolachlor. Dans ce cas les plus concentrations en alachlore pourraient être liées à un taux de sa dégradation plus élevé que celle du métolachlor. En baie de l'Aiguillon, les plus faibles concentrations en herbicides (atrazine 9 ng/L, simazine 5 ng/L, terbuthylazine 5 ng/L et DEA 13 ng/L) ont été observées plus au large sur la station des bouchots de la Barrique. Les niveaux comparables ont été déterminés dans les eaux côtières de la baie de Bourgneuf. Plus généralement, dans la baie de l'Aiguillon les concentrations des herbicides sont inversement corrélées à la salinité

et montrent un gradient de dilution conservative typique de mélange estuarien (Tronczynski et al. 1999).

En conclusion, les eaux de deux sites du Falleron amont (baie de Bourgneuf) et du Curé (baie de l'Aiguillon) sont les plus contaminées par les produits phytosanitaires. Les niveaux des concentrations et le nombre de substances identifiées sont plus importants sur ces deux stations. Dans la baie de Bourgneuf les eaux de fortes salinités ont été adjacentes aux exutoires des étiers indiquant ainsi les faibles apports directs en eaux douces dans la baie pour cette période de l'année. En effet, pour notre série d'échantillons, les concentrations en herbicides dissous dans la baie sont faibles caractéristiques des eaux côtières. Ceci n'exclut pas des apports significatifs en herbicides au moment des lâchages de vannes des étiers. Dans la baie de l'Aiguillon, les gradients des concentrations en herbicides dissous indiquent leurs apports estuariens plus soutenus. La baie intègre des apports issus des bassins versants agricoles de la Sèvre Niortaise et du Lay. Le devenir des composés chimiques dissous dans la baie dépend principalement de la dynamique du mélange et d'échange des masses d'eaux.



## 5. Références bibliographiques

- Adams C.D., Thurman E.M., 1991. Formation and transport of deethylatrazine in the soil and Vadose zone. *J. Environ. Qual.*, 20, 540-547.
- Munschy C., 1995. Comportement géochimique des herbicides et de leurs produits de dégradation en milieu estuarien et marin côtier. Thèse de doctorat de l'Université Paris 6, 264 p.
- Readman J.W., Kwong L.L.W., Grondin D., Bartocci J., Villeneuve J.P., Mee L.D., 1993a. Coastal water contamination from a triazine herbicide used in antifouling paints. *Environ. Sci. Technol.*, 27, 1940-1942.
- Readman J.W., Albanis T.A., Barcelo D., Galassi S., Tronczynski J and Gabrielides G.P. 1993b. Herbicides contamination of mediterranean estuarine waters: results from a MED-POL pilot study. *Marine Pollution Bull.* 25.
- Tronczynski J., 1992. An overview of atrazine in the estuarine environment. *ICES/MCWG 1993/8.2.6/ ACMP* 12 p.
- Tronczynski J., Munschy C., Durand G and Barcelo D. 1993. Monitoring of trace-levels of herbicides and their degradation products in the Rhône river, France, by gas chromatography-mass spectrometry-The Science of the Total Environ. 132, 327-337.
- Tronczynski J. et Moisan K. 1996. Contaminants organiques organoazotés et organochlorés dissous et particulaires dans le Rhône ; Suivi annuel juin 1994 - août 1995 à Arles : niveaux des concentrations et évaluation des flux bruts du Rhône à la Méditerranée. IFREMER DEL/CCM 96p.
- Tronczynski J., Muschy C., Moisan K., 1999. Contaminants organiques qui laissent des traces : sources, transport et devenir. Fascicule du programme scientifique de recherche :Seine-Aval ed. IFREMER 40p.
- Tronczynski J. et Moisan K. 1999. Evaluation des flux de produits phytosanitaires apportés par la Loire à l'estuaire. IFREMER DEL/PC Rapport d'étude 61p.

## 6. Tableaux

Tableau 1. Prélèvements en baie de Bourgneuf et les paramètres physico-chimiques des échantillons.

Stations	Site	Dates	Heure	Salinités	COD	MES	COP %	NOP %	HOP %
					mg/L	mg/L			
BB-1	Falleron	11-juin-98	09:50	34,16	2,54	237,14	2,08	0,14	0,81
BB-2	Fresnes	15-juin-98	11:20	0,68		55,47	5,02	0,84	1,29
BB-3	Sallertaine	15-juin-98	12:10	33,39	1,72	50,61	2,70	0,20	0,80
BB-4	Taillée Am.	15-juin-98	13:20	9,16	13,82	4,34	31,93	4,45	5,03
BB-5	Taillée Av.	15-juin-98	13:50	33,50	2,72	236,53	2,15	0,18	0,76

Tableau 2. Prélèvements en baie de l'Aiguillon et les paramètres physico-chimiques des échantillons.

Noms	Site	Dates	Heure	Salinités	COD	MES	COP %	NOP %	HOP %
					mg/L	mg/L			
BA-1	Sèvre	09-juin-98	09:05	15,71	2,59	140,05	1,97	0,31	0,77
BA-2	Baie	09-juin-98	09:50	30,30	2,17	612,20	1,43	0,23	0,77
BA-3	Curé	09-juin-98	12:50	0,60	3,92	30,33	2,84	0,07	0,91
BA-4	Le Lay	09-juin-98	11:30	30,82	1,75	274,97	1,80	0,42	0,73
BA-5	La Barrique	09-juin-98	10:50	32,24	1,45	47,06	2,61	1,18	0,79

Tableau 3. Liste des produits phytosanitaires recherchés (remarque que les six derniers composés dans le tableau exigent des protocoles analytiques spécifiques); X indique composés identifiés par la CPG – MS et/ou par la CPG-NPD ; d'autres produits n'ont pas été détectés.

Baie de Bourgneuf						Baie de l'Aiguillon					
	BB-1 Faleron	BB-2 Fresnes	BB-3 Gd. Etier	BB-4 Vivier	BB-5 Perrier		BA-1 Sèvre	BA-2 Baie	BA-3 Curé	BA-4 La Lay	BA-5 Référence
EPTC						EPTC					
Molinate						Molinate					
TBP	x	x	x	x	x	TBP	x	x	x	x	x
Déisopropylatrazine	x	x	x	x	x	Déisopropylatrazine	x	x	x	x	x
Déséthylatrazine	x	x	x	x	x	Déséthylatrazine	x	x	x	x	x
Trifluraline						Trifluraline					
Bromoxynil						Bromoxynil			x		
Tebutame						Tebutame	x	x	x		
Dicloran						Dicloran					
Carbofuran		x				Carbofuran					
Simazine	x	x	x	x	x	Simazine	x	x	x	x	x
Prometon						Prometon					
Atrazine	x	x	x	x	x	Atrazine	x	x	x	x	x
Propazine	x				x	Propazine	x	x	x	x	x
Terbumeton		x				Terbumeton					
Trietazine						Trietazine					
Terbufos						Terbufos					
Terbutylazine	x	x	x	x	x	Terbutylazine	x	x	x	x	x
Chlorothalonil						Chlorothalonil					
Diazinon						Diazinon					
Dinoseb						Dinoseb					
Secbumeton						Secbumeton					
Desmetryne						Desmetryne					
Propanil						Propanil					
Cyprazine	EI	EI	EI	EI	EI	Cyprazine	EI	EI	EI	EI	EI
Metribuzin						Metribuzin					
Vinchlozoline						Vinchlozoline					
Methyl-parathion						Methyl-parathion					
Alachlore	x	x	x	x	x	Alachlore	x	x	x	x	x
Métalaxyle		x				Métalaxyle					
Ametryne						Ametryne					
Prometryne						Prometryne					
Fenpropidine			x			Fenpropidine	x				
Fenitrothion						Fenitrothion					
Terbutryne						Terbutryne					
Bromacil						Bromacil					
Métolachlor	x	x	x	x		Métolachlor	x	x	x	x	x
Malathion						Malathion					
Cyanazine						Cyanazine					
Ethyl-parathion						Ethyl-parathion					
Fenpropimorphe						Fenpropimorphe					
Bentazon						Bentazon					
Captane						Captane					
Irgarol	x				x	Irgarol					
Folpet						Folpet					
Hexaconazole						Hexaconazole					
Pretilachlore	EI	EI	EI	EI	EI	Pretilachlore	EI	EI	EI	EI	EI
Oxadiazon				x		Oxadiazon	x		x		
Flusilazole						Flusilazole	x		x		
Cyproconazole						Cyproconazole					
Propiconazole						Propiconazole			x		
Chloridazon						Chloridazon					
Tebuconazole		x				Tebuconazole					
Captafol						Captafol					
Diflufénicanil		x				Diflufénicanil			x		
Bifenox						Bifenox					
Azimphos-méthyle						Azimphos-méthyle					
Phosalone						Phosalone					
Azimphos-éthyle						Azimphos-éthyle					

Suite tableau 3.

Perchloraze						Perchloraze					
Fenbuconazole						Fenbuconazole					
Deltametryne						Deltametryne					
Oxadixyl		x				Oxadixyl			x		
Metazachlor						Metazachlor			x		
Ethofumesate						Ethofumesate					
Anthraquinone						Anthraquinone					
Lindane	x	x	x	x	x	Lindane	x	x	x	x	x
Chlorfenvinfos		x				Chlorfenvinfos					
Procymidone						Procymidone					
Aldicarb						Aldicarb					
Ethephone						Ethephone					
Dinoterb						Dinoterb					
Carbendazim						Carbendazim					
Phenmedipham						Phenmedipham					
Aminotriazole						Aminotriazole					

**Tableau 4. Concentrations (ng/L) des produits phytosanitaires en baie de Bourgneuf, à Montjean (Loire) et en zone côtière.**

Stations	Site	Dates	Heure	Salinités	DEA	Simazine	Atrazine	Térbuthylazine	Alachlore	Fenpropidine	Métolachlor	Irgarol
					ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	
BB-1	Falleron	11-juin-98	09:50	34,16	11	8	9	6	<LQ	ND	<LQ	5
BB-2	Fresnes	15-juin-98	11:20	0,68	85	276	172	432	25	ND	<LQ	ND
BB-3	Salleratine	15-juin-98	12:10	33,39	11	5	8	4	<LQ	21	<LQ	ND
BB-4	Taillée Am.	15-juin-98	13:20	9,16	26	70	95	18	<LQ	ND	<LQ	ND
BB-5	Taillée Av.	15-juin-98	13:50	33,50	17	7	9	4	<LQ	ND	<LQ	12
Loire 17	Montjean	17-juin-98		0	50	37	212	17	30	65	35	ND
Zhed	Zhed 15	14-févr-99	8 :55	33,34	3	2	6	2	ND	ND	ND	ND

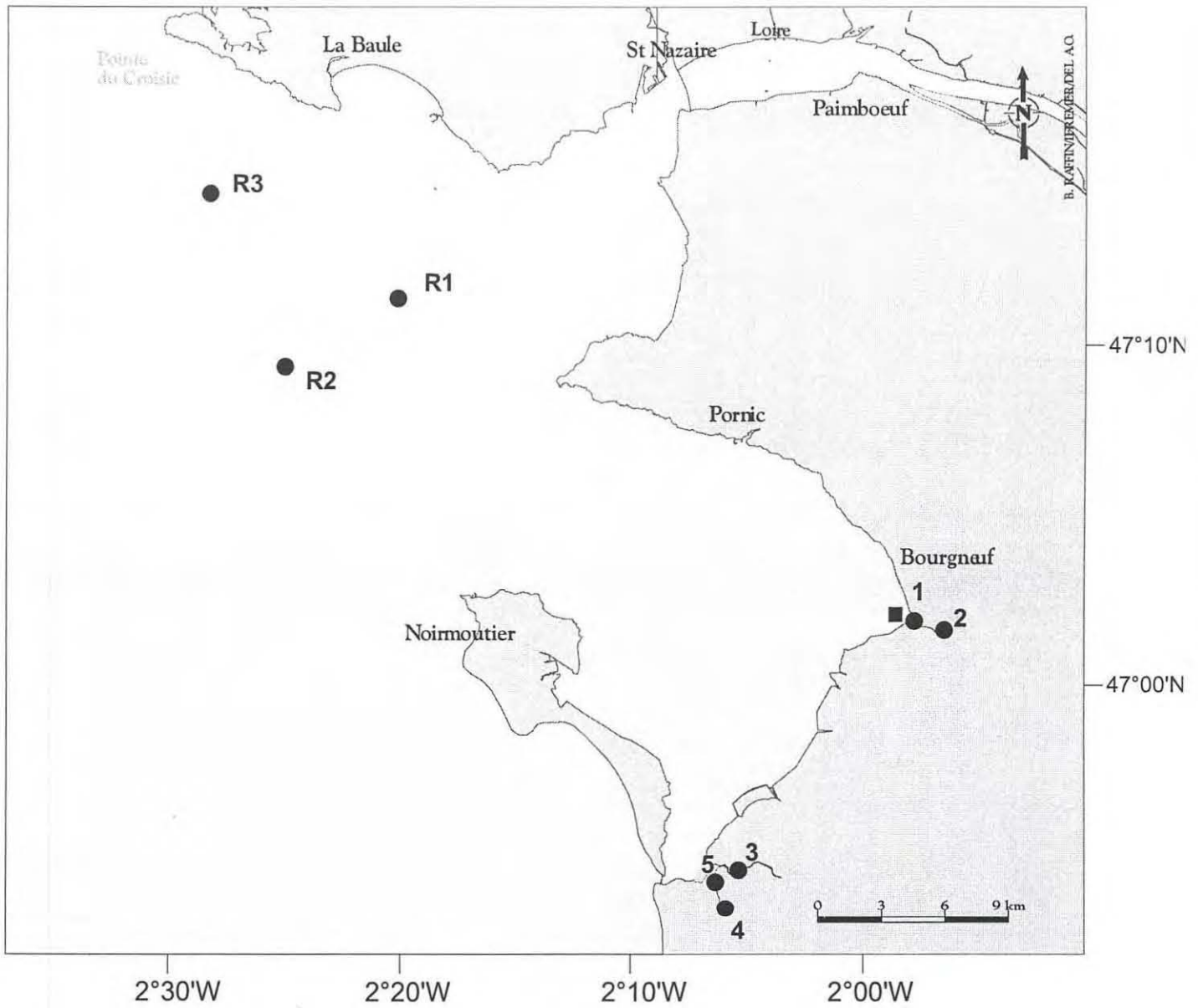
**Tableau 5. Concentration (ng/L) des produits phytosanitaires en baie d'Aiguillon.**

Noms	Site	Dates	Heure	Salinités	DEA	Simazine	Atrazine	Terbuthylazine	Alachlore	Fenpropidine	Métolachlor
					ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
BA-1	Sèvre N.	09-juin-98	09:05	15,71	35	15	73	10	12	<LQ	26
BA-2	P. Landes	09-juin-98	09:50	30,30	17	7	23	6	<LQ	ND	<LQ
BA-3	Curé	09-juin-98	12:50	0,60	58	17	145	9	17	ND	36
BA-4	Le Lay	09-juin-98	11:30	30,82	18	10	23	8	<LQ	ND	18
BA-5	La Barrique	09-juin-98	10:50	32,24	13	5	9	5	<LQ	ND	<LQ

LQ en ng/l

Alachlore	5
Metolachlor	5
Fenpropidinh	4

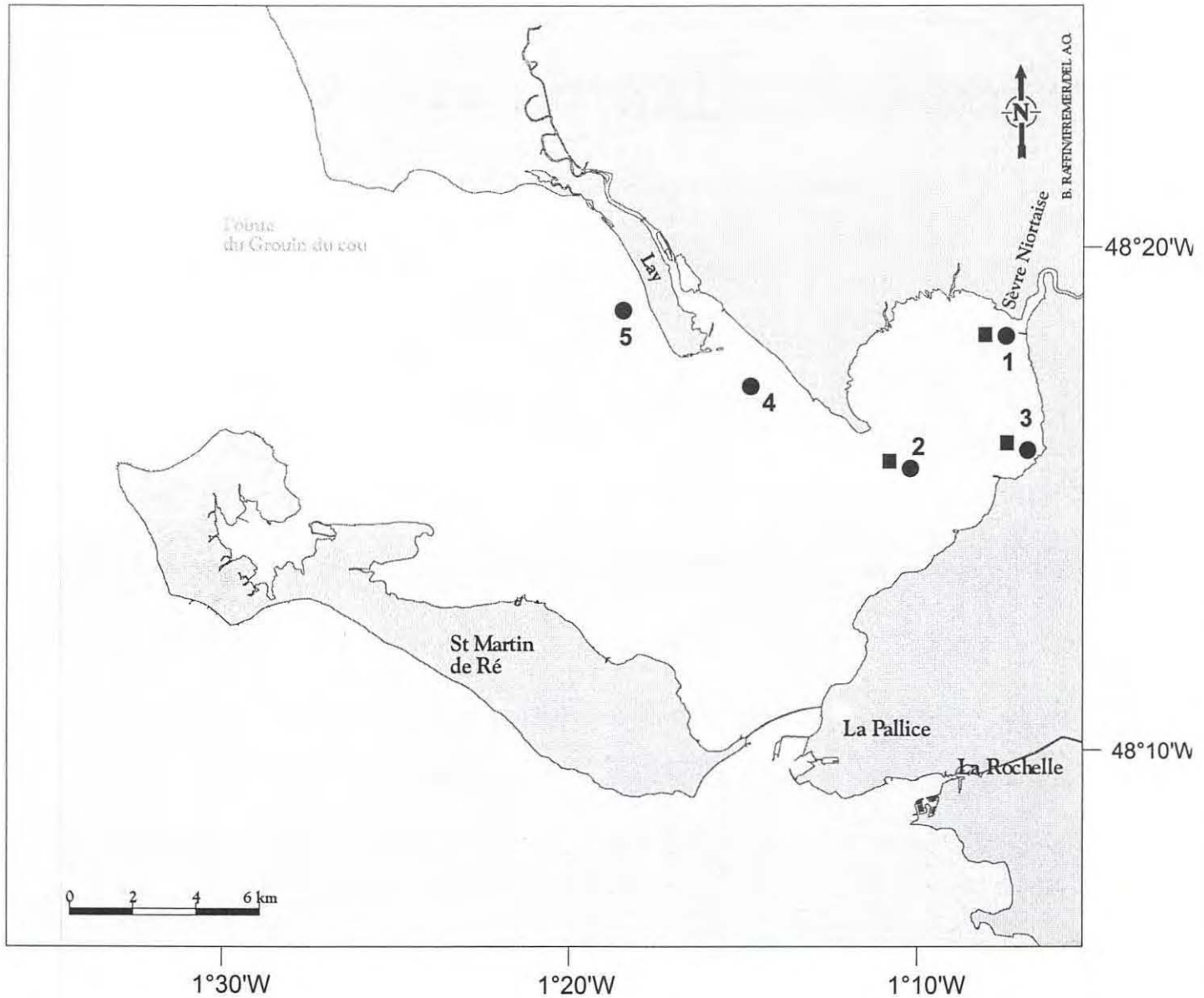
# Prélèvements dans la baie de Bourgneuf et les références de la Loire



- Prélèvements d'échantillon d'eau
- Prélèvements d'échantillon des sédiments

Figure 1

# Prélèvements dans la baie de l'Aiguillon



- Prélèvements d'échantillon d'eau
- Prélèvements d'échantillon des sédiments

Figure 2

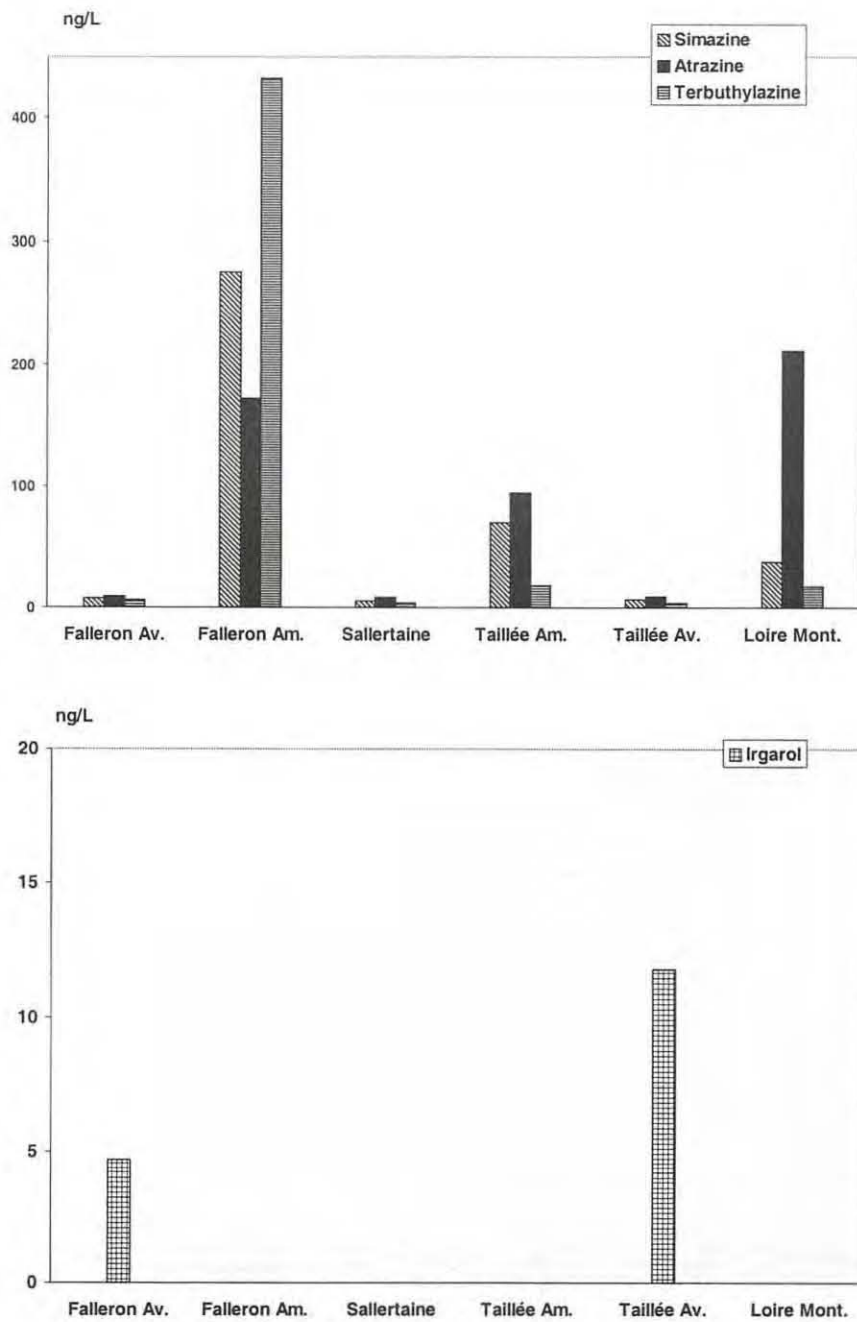


Figure 3 . Niveaux des concentrations des composés chimiques dissous en baie de Bourgneuf.



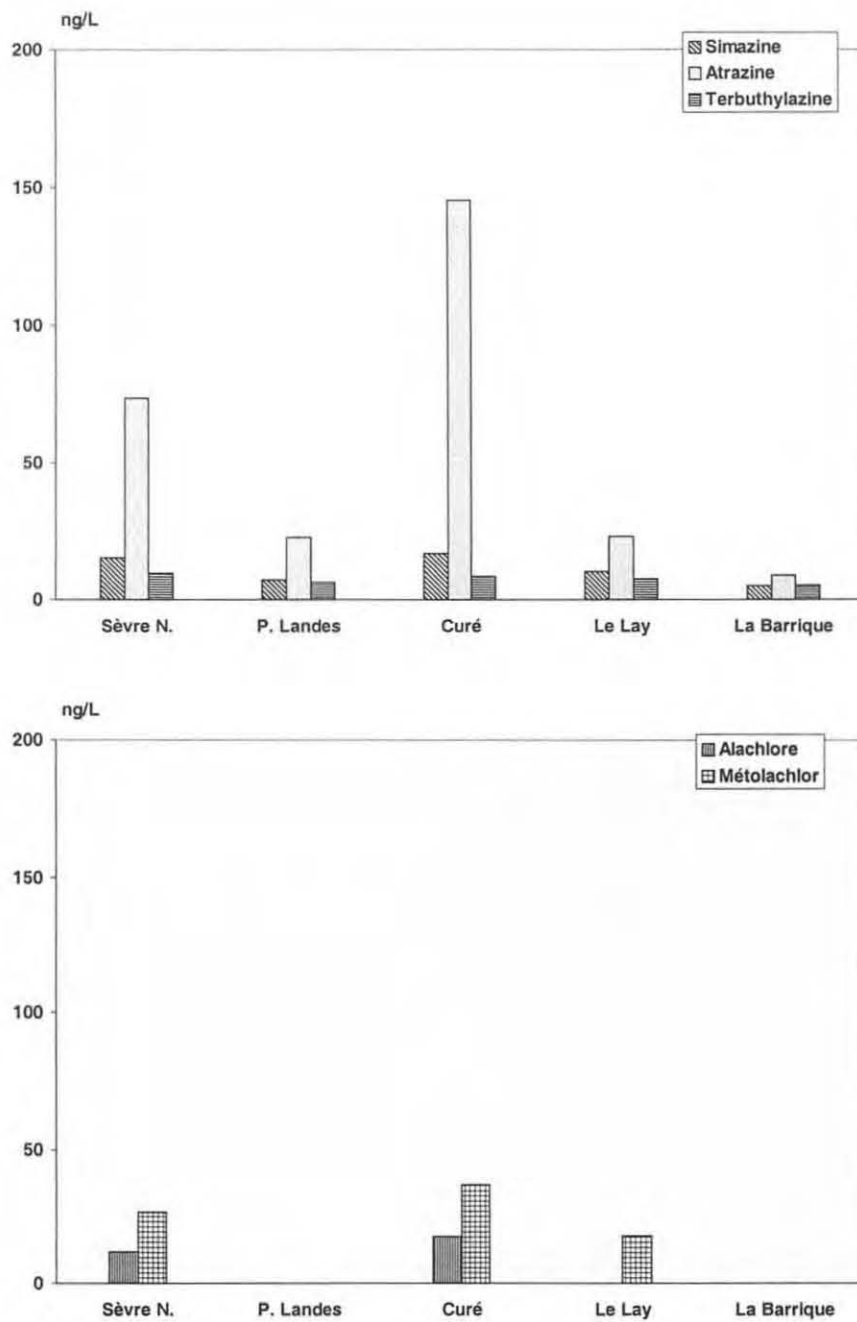


Figure 4. Niveaux des concentrations des composés chimiques dissous en baie de l'Aiguillon.

## **B. Comparaison des niveaux de cholinestérases sur les moules de deux zones côtières sensibles dans la Région des Pays de la Loire: la Baie de l'Aiguillon et la Baie de Bourgneuf**

Gilles Bocquené, Pierre Maggi et James Grizon

### **8. Les cholinestérases: biomarqueurs d'effets neurotoxiques des contaminants**

Les cholinestérases et particulièrement l'acétylcholinestérase (AChE), directement impliquée dans la transmission de l'influx nerveux, constituent la cible privilégiée de nombreuses molécules neurotoxiques parmi lesquelles figurent les insecticides (organophosphorés, carbamates, pyréthrinés), certains herbicides (triazines) et de nombreux métaux (arsenic, zinc, cuivre, cadmium). La plupart de ces molécules se révèle être à la fois des inhibiteurs de cholinestérases et des contaminants des milieux aquatiques. L'inhibition de l'activité acétylcholinestérasique est utilisée comme indicateur d'effets neurotoxiques. Les effets neurotoxiques sont directement mesurés à partir d'organismes vivants prélevés *in situ*. L'activité des cholinestérases étant mesurable chez la plupart des espèces marines, le choix s'est porté sur la moule (*Mytilus edulis*) qui représente dans ces deux régions une production et un poids économique importants.

La stratégie d'utilisation de ce biomarqueur consiste à comparer *in situ* les niveaux d'activité AChE sur une même espèce afin de localiser les zones d'exposition et d'estimer l'impact écotoxique de la contamination.

### **9. Localisation des zones d'étude**

#### **➔ Baie de l'Aiguillon (figure 3) :**

- Le port du Pavé (déversoir de la Sèvre Niortaise)
- La pointe des Landes
- Le Lay (déversoir du Lay)
- Les boucheaux de la Barrique située en dehors de la Baie et considérée comme

station de référence

#### ➔ Baie de Bourgneuf (figure 4)

- Les bouchots du Fiol
- La bouée du Chenal (face à Pornic)
- La bouée du Bois de la Chaize (Ile de Noirmoutier)
- Les bouchots de Maison Blanche (Ile de Noirmoutier)

### 9.1. Echantillonnage

Les études ont été développées aux printemps 98 et 99 après les périodes d'épandage des produits phytosanitaires et après des épisodes pluvieux susceptibles d'entraîner un lessivage des surfaces agricoles et des apports de contaminants en zone côtière.

En Baie de l'Aiguillon, les prélèvements de moules ont été effectués simultanément aux prélèvements d'eaux prévus pour les analyses chimiques en Juin 1998. Les mêmes prélèvements ont été renouvelés en Juin 1999 sur cette zone. Pour des raisons météorologiques (succession de tempêtes) les prélèvements en Baie de Bourgneuf n'ont été rendus possibles qu'en Juin et Juillet 1999.

Sur chacune des stations des deux zones étudiées, 30 moules de taille homogène ( $45 \pm 3$  mm) sont récoltées soit directement sur les moulières (bouchots) soit sur les populations fixées aux balises. Les branchies sont prélevées et immédiatement préservées dans la glace carbonique ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) sous forme de 3 pools de 10 individus par station. En complément des prélèvements, la température et la salinité du milieu sont notés.

L'échantillonnage a été réalisé avec les moyens nautiques d'IFREMER à partir du Pitalugue/La Tremblade sur la Baie de l'Aiguillon et du Pitalugue/Nantes, en Baie de Bourgneuf.

### 10. Méthode analytique de mesure des cholinestérases:

La méthode colorimétrique d'Ellman (1963) adaptée à la mesure en système microplaque a été appliquée à l'analyse des activités des cholinestérases. Les protéines sont mesurées selon la méthode décrites par Bradford (1976).

Les analyses sont répliquées 4 fois pour chacune des mesures (4 mesures par pool sur 3 pools, soit 12 mesures par station). Les résultats sont exprimés en activités spécifiques (nmoles d'AcSCh hydrolysées  $\text{minute}^{-1}$ .  $\text{mg}$  de protéine $^{-1}$ ). Les moyennes d'activité  $\pm$  écart-type (variabilité naturelle des échantillons) sont statistiquement analysées (test du t de Student) et comparées zone par zone pour mettre en évidence d'éventuelles perturbations dans les niveaux d'activité du biomarqueur.

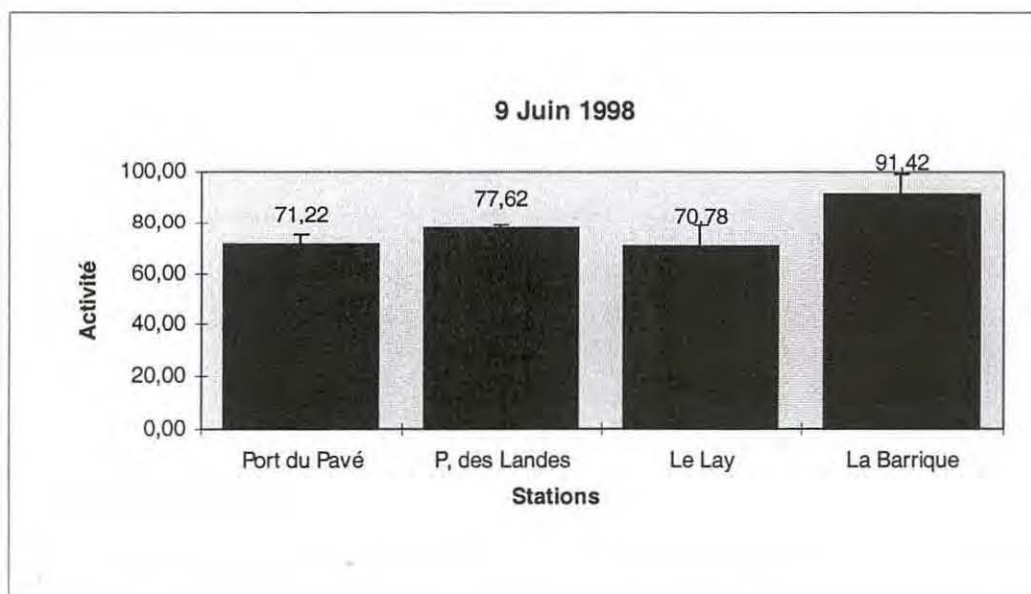
## 11. Résultats et discussion:

Les données sont représentées sous forme d'histogrammes pour chacune des campagnes de prélèvements (figures 1 et 2). En annexe sont disponibles sous forme de tableaux les moyennes d'activité  $\pm$  écart-type (tableau 1), les valeurs des paramètres environnementaux salinité et température (tableau 2) et la localisation géographiques des données (figures 3 et 4).

### ➔ Baie de l'Aiguillon:

Le suivi réalisé sur la même période de l'année, en 1998 et 1999, montre le même profil d'activités des cholinestérases sur l'ensemble des stations de cette zone.

En 1998, les activités mesurées sur la station de référence, la Barrique, montrent des valeurs qui diffèrent significativement (test t de Student,  $\alpha = 0.05$ ) des trois autres stations port du Pavé et Le Lay situées dans la Baie. Comparées aux animaux échantillonnés sur cette station, les moules prélevées sur les stations du Port du Pavé et de l'embouchure du Lay affichent des activités enzymatiques inférieures de 22%, celles provenant de la station de la pointe des Landes montrant une diminution de 15% par rapport au point de référence.



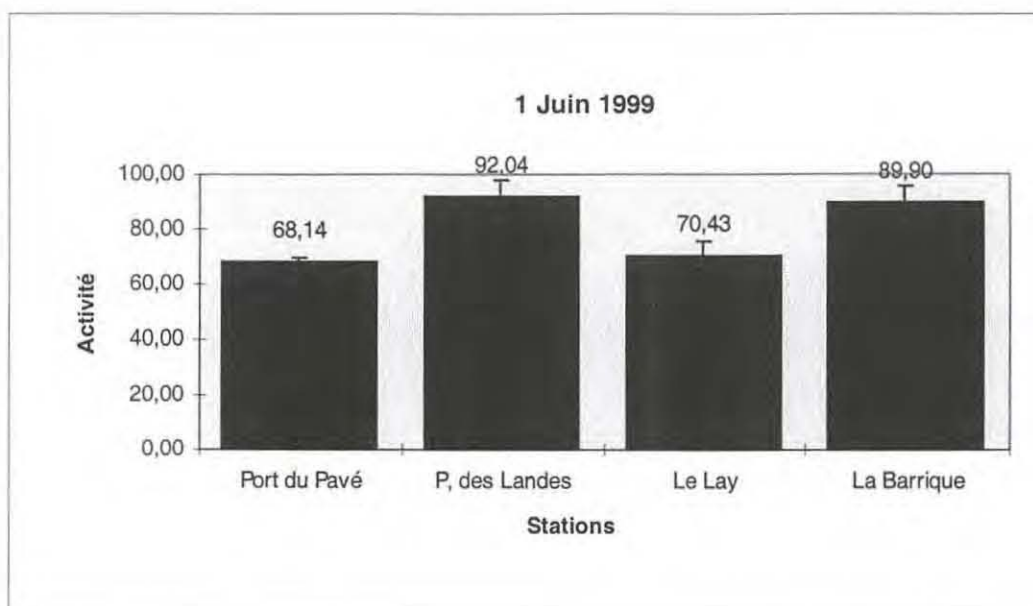


Figure 1: Niveaux d'activité des cholinestérasés de moules en provenance de quatre stations de la Baie de l'Aiguillon en Juin 1998 et Juin 1999. Les activités sont exprimées en  $\text{nmol min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{P}$ . Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart-type de 3 pools de 10 individus (soit 30 individus par station).

Les mesures effectuées en Juin 1999 confirment les valeurs mesurées en 1998 en affirmant les tendances observées l'année précédente. Les stations Pointe des Landes et la Barrique montrent encore les plus fortes activités cholinestérasiques et les valeurs mesurées sur les moules des stations du port du Pavé et de l'embouchure du Lay indiquent des pertes d'activité significativement plus fortes ( $\alpha = 0.05$ ) avec respectivement 27% et 23% d'inhibition. Aucune différence significative n'apparaît entre la station La Barrique et la Pointe des Landes où les valeurs sont semblables.

Les stations du port du Pavé et de l'embouchure du Lay sont les stations montrant les plus fortes inhibitions suggérant une exposition plus forte à la présence de xénobiotiques apportées par les deux cours d'eau (Sèvre Niortaise et le Lay). Le tableau 2 (annexe) montre une salinité faible (15,1 ‰) sur la station du Pavé en relation avec les apports d'eau douce de la Sèvre. Les prélèvements effectués au renversement de la marée sur la station de l'embouchure du Lay dans les deux études montrent une salinité plus forte 30,7%. Mais les arrivées d'eau douce sur cette station sont aussi indéniables. En revanche la station de la Barrique située en dehors de l'anse de l'Aiguillon et du panache de la Sèvre et du Lay montre sur les deux années l'activité la plus forte qui suggère une exposition significativement plus faible que sur les sites du Lay et du Pavé.

On notera enfin la remarquable stabilité de l'activité des cholinestérases d'une année à l'autre sur la plupart des stations.

#### ➔ Baie de Bourgneuf:

En Juin 1998, l'échantillonnage de moules n'a pu être réalisé compte tenu des conditions météorologiques difficiles, malgré deux sorties mouvementées. Les prélèvements sur 3 stations ont donc été effectués le 22 Juin 1999 suite à une période de 13 jours sans précipitation. Une seconde campagne de prélèvements a été réalisée le 1 Juillet 1999 en couvrant les 4 stations. Ce deuxième échantillonnage a été effectué après une importante période pluvieuse pour cette saison (5 jours consécutifs pour une précipitation totale de 9.6 mm à Bouin). Les données obtenues sur ce site sont regroupées dans la figure 2.

De manière générale, les activités observées sur le site de la Baie de Bourgneuf sont sensiblement plus faibles que celles observées pour la même période en Baie de l'Aiguillon. Cette diminution en niveau d'activité est vraisemblablement imputable à la différence de température entre les deux régions, la moyenne des températures en Baie de Bourgneuf se situant le 22 Juin, jour du prélèvement à 16.4 °C tandis qu'elle affichait déjà 18,7 °C en Baie de l'Aiguillon le 9 Juin.

Pour ce qui concerne les prélèvements opérés le 22 Juin sur les trois stations Le Fiol, Bouée du Chenal et Bouée du Bois de la Chaize aucune différence significative n'apparaît en appliquant le test du t de Student bien que les valeurs d'activité AChE mesurées sur les moules du Bois de la Chaize soient plus fortes. En revanche, sur les échantillons réalisés après une période de fortes précipitations l'analyse des données (test du t de Student:  $\alpha = 0.05$ ) montre que les valeurs obtenues sur la station Le Fiole sont significativement plus faibles, avec une activité inférieure de 30%, que les activités mesurées sur la station Bouée de la Chaize alors que les stations Bouée du Chenal et Maison Blanche ne montrent pas de différence.

Il apparaît donc une dépression significative de l'activité AChE des organismes prélevés sur la station du Fiol située le plus à proximité des arrivées d'eau douce et de ce fait la plus exposée. En revanche, les moules récoltées sur la station de la bouée de la Chaize localisée à la limite externe de la baie de Bourgneuf et soumise aux apports d'eau océanique montrent les activités les plus fortes.

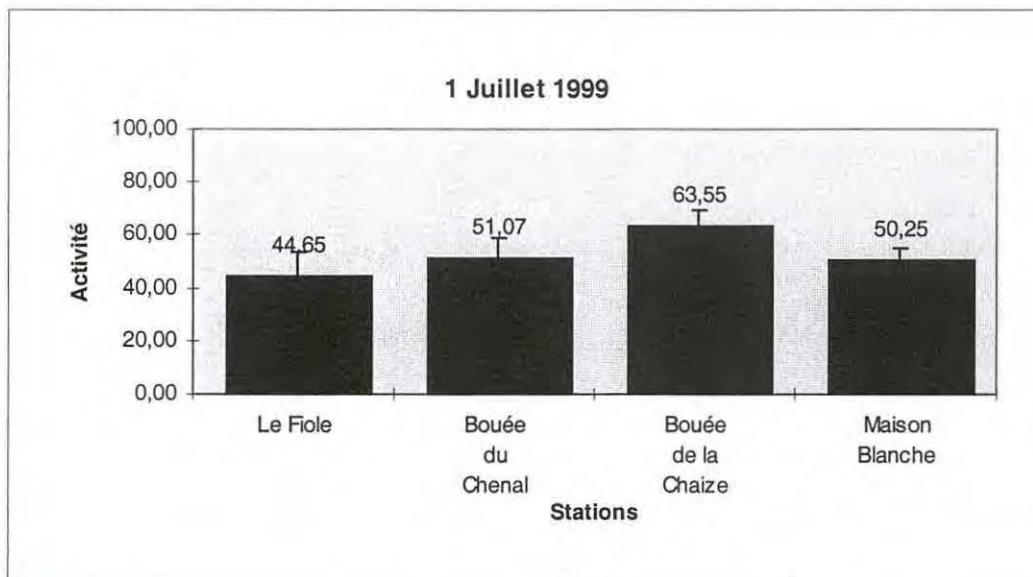
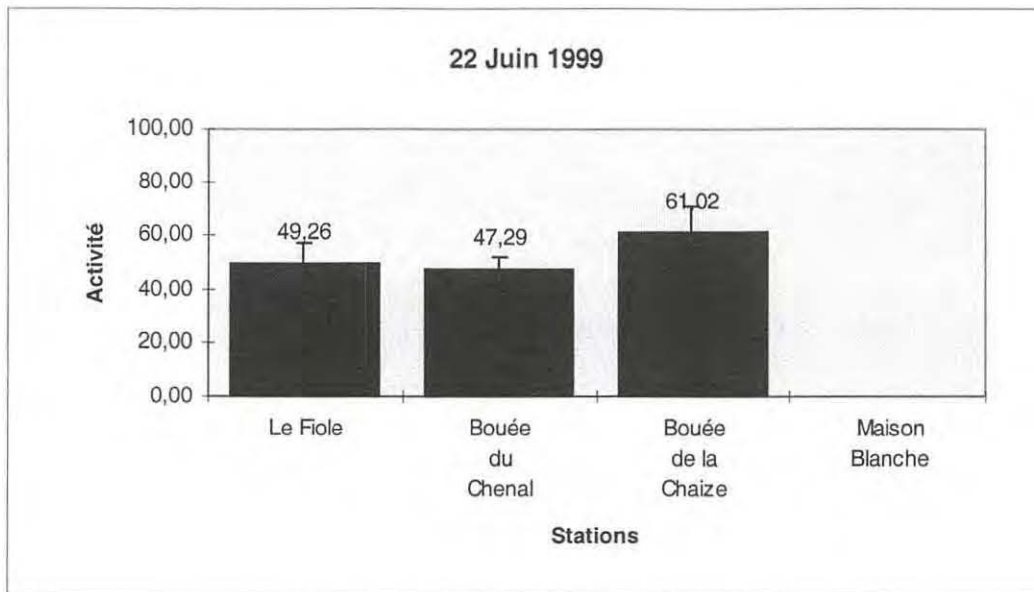


Figure 2: Niveaux d'activité des cholinestérases de moules en provenance de quatre stations de la Baie de Bourgneuf en Juin 1999. Les activités sont exprimées en  $\text{nmoles min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{P}$ . Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart-type de 3 pools de 10 individus (soit 30 individus par station).

### 11.1. Signification écotoxicologique des variations d'activité AChE:

Les effets neurotoxiques induits par une grande partie des contaminants majeurs des systèmes aquatiques sont détectables par la mesure de l'inhibition de l'acétylcholinestérases (AChE) chez les espèces animales. Parmi les composés neurotoxiques, les insecticides organophosphorés et carbamates (80% des insecticides, 3000 T/an en France) sont considérés comme les plus puissants inhibiteurs spécifiques de

cholinestérase. Dans une moindre mesure d'autres contaminants tels que le mercure, le cuivre, le cadmium et le métalloïde arsenic sont impliqués dans ces mécanismes inhibiteurs soit comme inhibiteurs directs non spécifiques soit comme catalyseur de l'inhibition (Bocquené *et al.*, 1995. Forget *et al.* 1999). Des mélanges complexes d'hydrocarbures ont été cités dans la mesure de dépressions de l'AChE (Payne *et al.* 1996). Enfin des effets inhibiteurs synergiques forts ont été rapportés pour des associations binaires de pesticides (Pape-Lindstrom *et al.* 1997. Forget *et al.* 1999) qui soulignent la très forte sensibilité de ce marqueur à des niveaux de concentrations proches de ceux observés dans le milieu. Un des intérêts particuliers de l'utilisation des cholinestérases est de mettre en évidence des expositions à des molécules dont la rémanence dans le milieu est faible mais dont la toxicité peut être élevée (insecticides).

La connaissance grandissante des activités des cholinestérases chez la plupart des espèces aquatiques (caractérisation moléculaire et cinétique, variabilités naturelles, influence des paramètres environnementaux, normalisation des méthodes analytiques) en fait l'un des biomarqueurs d'effets des contaminants parmi les plus fiables. Il est admis que dans des conditions contrôlées de prélèvements (homogénéité des populations, maîtrise des paramètres du milieu, limites spatiales et temporelles des échantillonnages) des variations d'activité AChE supérieures à 20% sont significatives d'un impact de la qualité du milieu sur les organismes exposés.

### **Glossaire:**

**AChE:** Acétylcholinestérase, enzyme impliquée dans la transmission de l'influx nerveux, elle est la cible directe de la plupart des insecticides.

**Phytoprotecteurs:** (Pesticides) Se dit de l'ensemble des préparations commerciales destinées à améliorer ou préserver les productions végétales.

**Synergie:** Caractérise un effet toxique lié à l'exposition à plusieurs contaminants dont l'ampleur est supérieure à la simple addition des effets de chacune des molécules prises individuellement.

**In situ:** Observation dans le milieu naturel.



## 12. Bibliographie

- BOCQUENE G., BELLANGER C., CADIOU Y. et GALGANI F.** 1995. Joint action of combinations of pollutants on the acetylcholinesterase activity of several marine species. *Ecotoxicology*. 4 : 266-279.
- BRADFORD M.** 1976. A rapid and sensitive assay of protein utilizing the principle of dye binding. *Analyt. Biochem.*, 772 : 248-264.
- ELLMAN G.L., COURTNEY K.O., ANDRRES V. ET FEATHERSTONE R.M.** 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7 : 88-95.
- FORGET J., PAVILLON J. F. , BELIAEFF B. et BOCQUENÉ G.** 1999. Joint action of pollutant combinations (pesticides and metals) on survival and acetylcholinesterase activity of *Tigriopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida). *Environ Toxicol Chem.* Vol. 18, N° 5, pp. 912-918.
- PAYNE J.F., MATHIEU A., MELVIN W. et FANCEY L.L.** 1996. Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Mar. Poll. Bull.* 32:225-231.
- PAPE-LINDSTROM PA et LYDY MJ.** 1997. Synergistic toxicity of atrazine and organophosphate insecticides contravenes the response addition mixtures model. *Environ Toxicol Chem* 16:2415-2420.

Baie de l'Aiguillon	Port du Pavé	Pointe des Landes	Le Lay	La Barrique
9 Juin 1998	71,22 ± 4,3	77,62 ± 1,41	70,78 ± 8,45	91,42 ± 8,09
1 Juin 1999	68,14 ± 4,91	92,04 ± 16,6	77,69 ± 1,06	89,90 ± 10,76

Baie de Bourgneuf	Le Fiol	Bouée du Chenal	Maison Blanche	Bois de la Chaize
22 Juin 1999	49,26 ± 7,80	47,29 ± 4,65	nd	61,02 ± 9,72
1 Juillet 1999	44,65 ± 8,98	51,07 ± 7,35	50,25 ± 4,98	63,55 ± 5,85

Tableau 1: Valeurs d'activités AChE ( $\pm$  écart-type) de branchies de moules pour chacune des stations. nd = non déterminées (les valeurs sont données en nmoles de substrat hydrolysées/mn/mg de protéine dans l'extrait)

9 Juin 1998	Port du Pavé	Pointe des Landes	Le Lay	La Barrique
Température	19,3°C	19,1°C	19,1°C	18,6°C
Salinité	15,1‰	30,2‰	30,7‰	33,2‰

1 Juin 1999	Port du Pavé	Pointe des Landes	Le Lay	La Barrique
Température	18,2°C	18,1°C	18,1°C	17,7°C
Salinité	17,1‰	30,0‰	28,6‰	33,0‰

22 Juin 1999	Le Fiol	Bouée du Chenal	Maison Blanche	Bois de la Chaize
Température	16,9°C	16,1°C	16,6°C	16,0°C
Salinité	30,0‰	33,0‰	33,0‰	33,2‰

1 Juillet 1999	Le Fiol	Bouée du Chenal	Maison Blanche	Bois de la Chaize
Température	19,3°C	17,0°C	19,1°C	18,6°C
Salinité	30,0‰	33,0‰	33,0‰	33,0‰

Tableau 2: Température et salinité du milieu (en surface) pour chacune des stations. (Ces valeurs sont données à titre indicatif, le balancement des marées sur ces zones est facteur de fluctuations spatio-temporelles importantes).

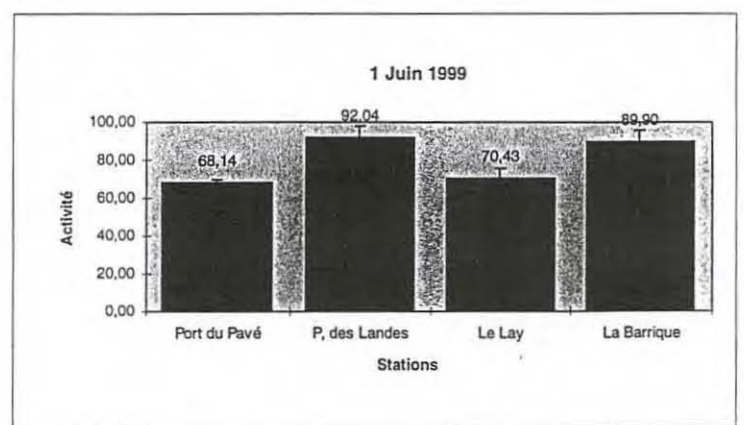
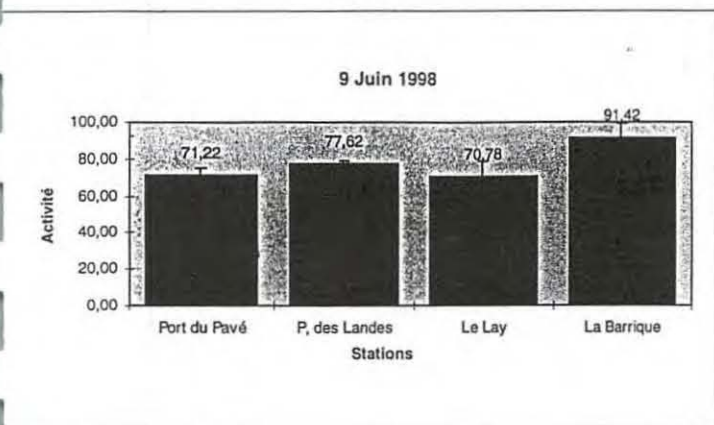
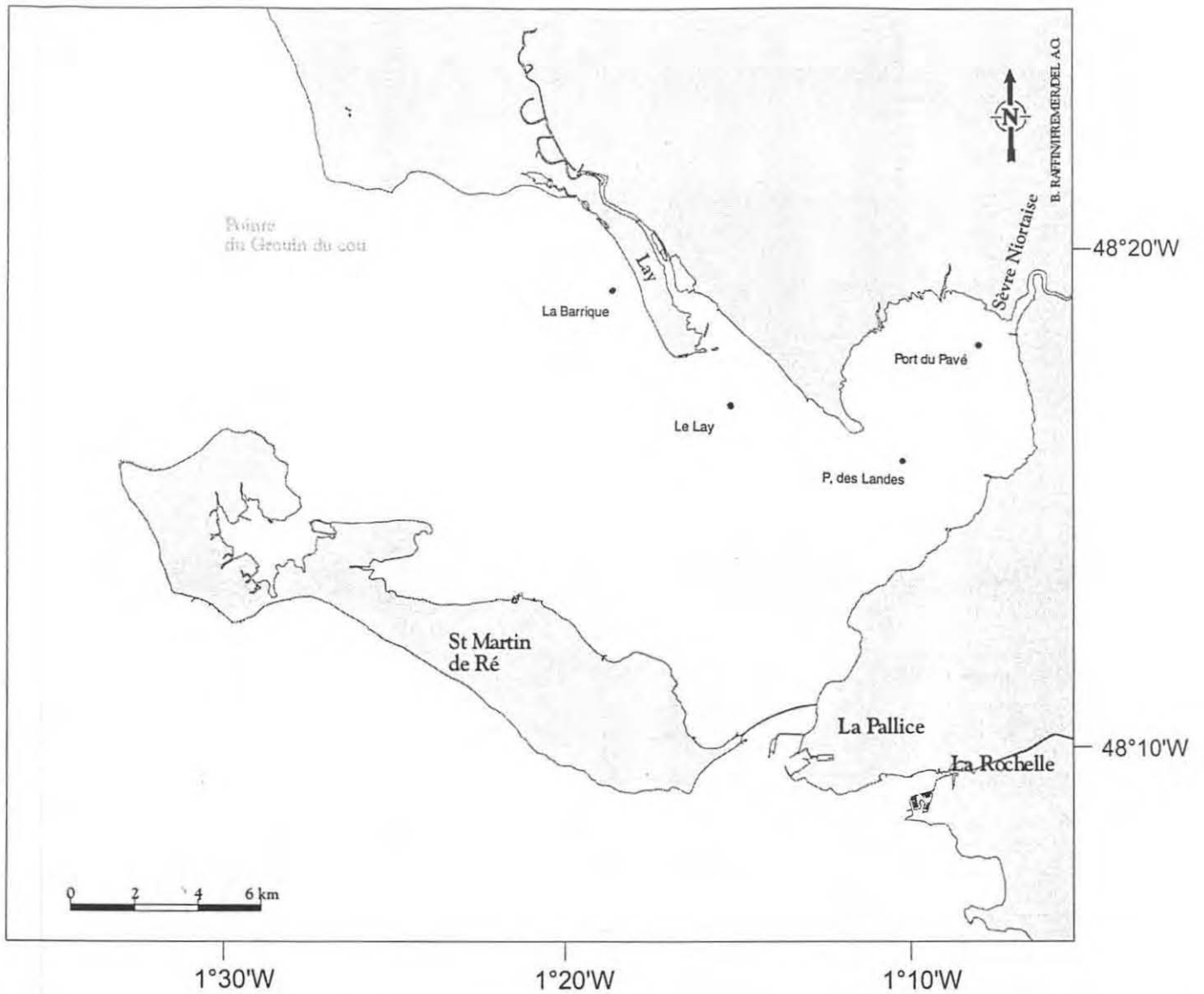


Figure 3: Localisation géographique des stations et des données en Baie de l'Aiguillon

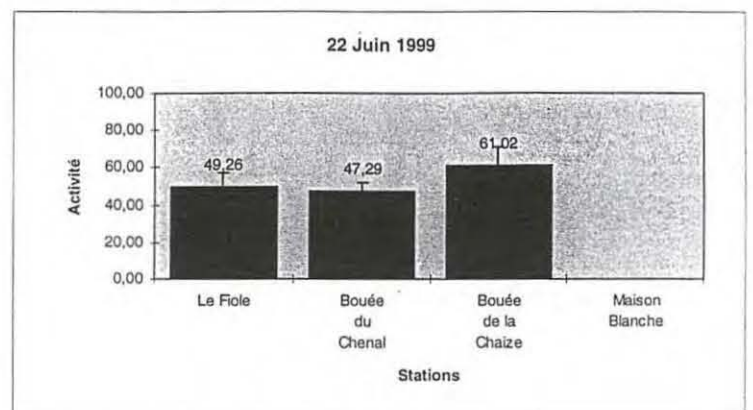
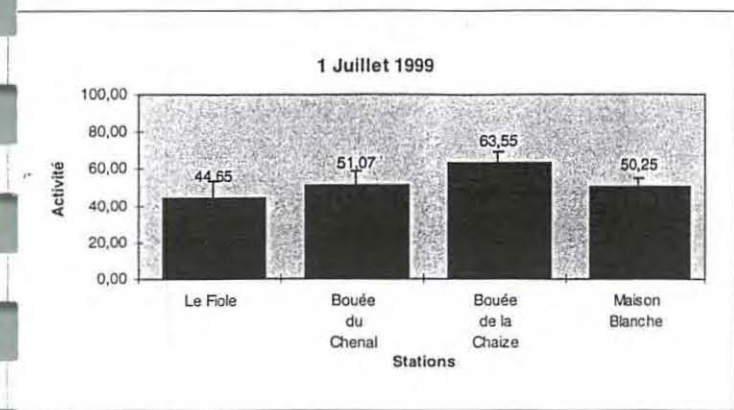
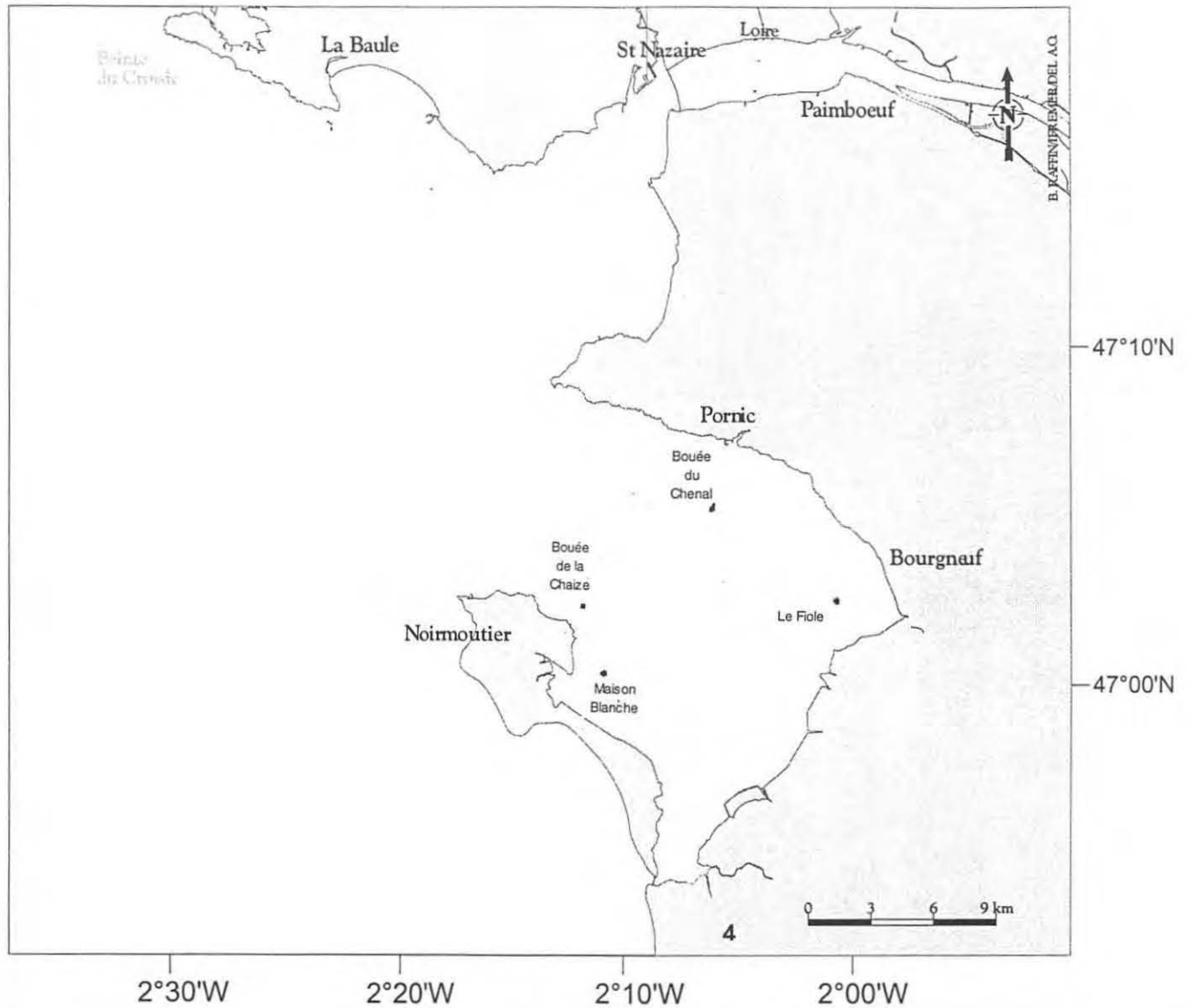


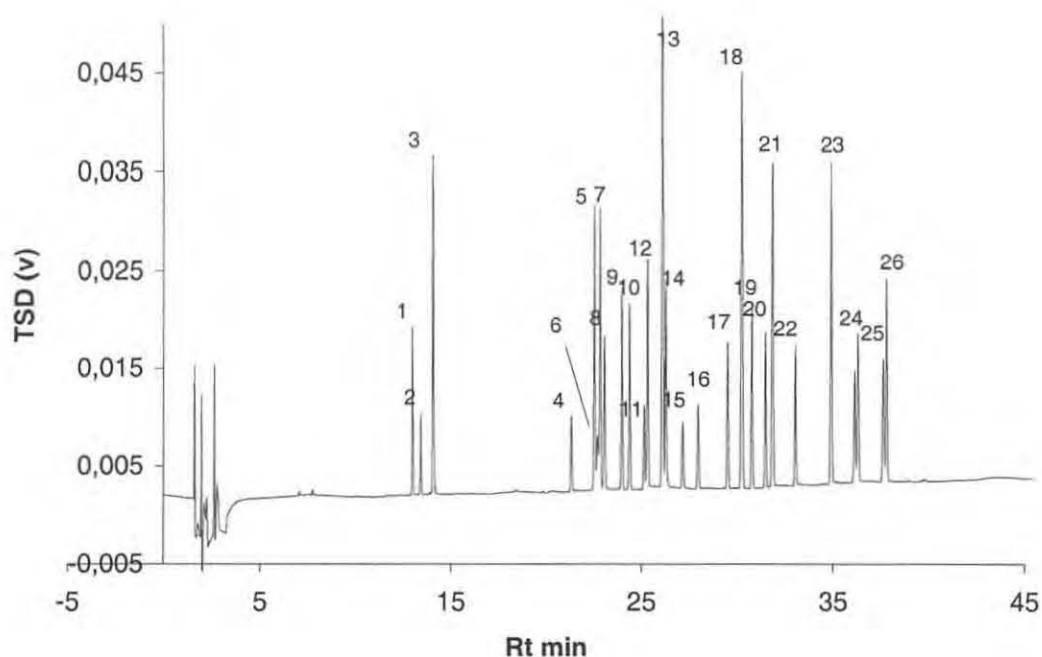
Figure 4: Localisation géographique des stations et des données en Baie de Bourgneuf

**Annexe 1**

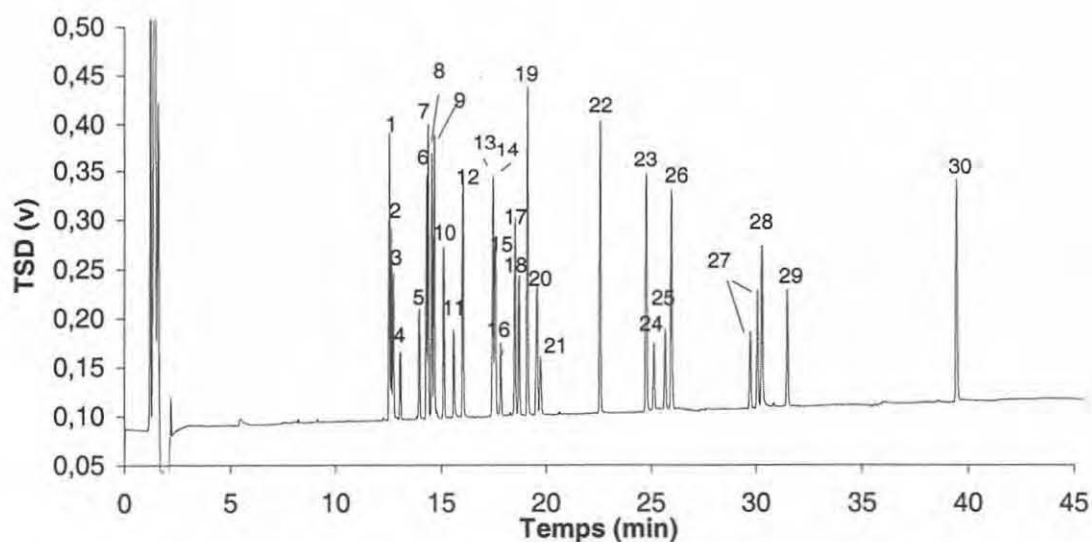
Chromatogrammes d'étalons et des chromatogrammes d'échantillons : analyses par CPG-TSD/NPD

Annexe 1.

Chromatogrammes reconstitués en CPG – NPD obtenus avec deux colonnes à polarité différente (J&W DX4 et DB5 : différents ordres d'éluion) ; analyse des mélanges d'étalons des différents composés recherchés dans les eaux de la Loire ; en DX4 pas de cyprazine injectée ; les dinoseb, chloridazon et perchloraz sont des composés non élués en DX4.



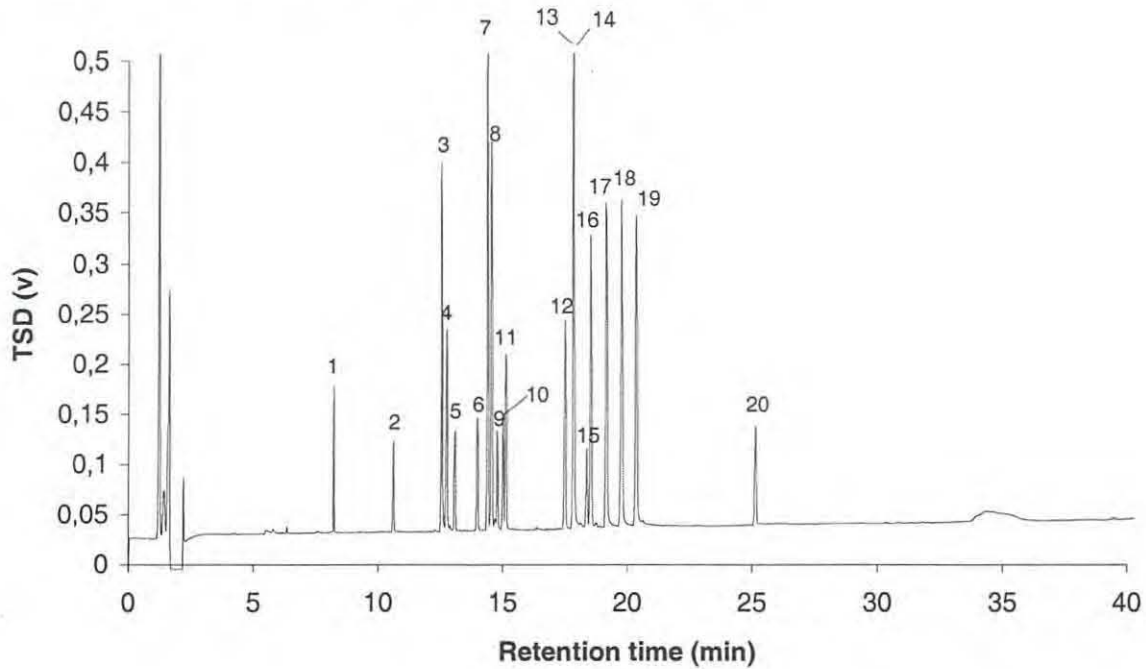
Col : **DX4** 1-trifluralin, 2-tebutame, 3-fenprididine, 4-alachlore, 5-propazine, 6-métolachlor, 7-secbumeton, 8-terbuthylazine, 9-carbofuran, 10-atrazine, 11-dicloran, 12-prometryne, 13-terbutryne, 14-simazine, 15-pretilachlor, 16-oxadiazon, 17-dééthyl-atrazine, 18-irgarol, 19-metribuzine, 20-déiso-atrazine, 21-hexaconazole, 22-propanil, 23-flusilazole, 24-propiconazole, 25-diflufenican, 26-bromacil.



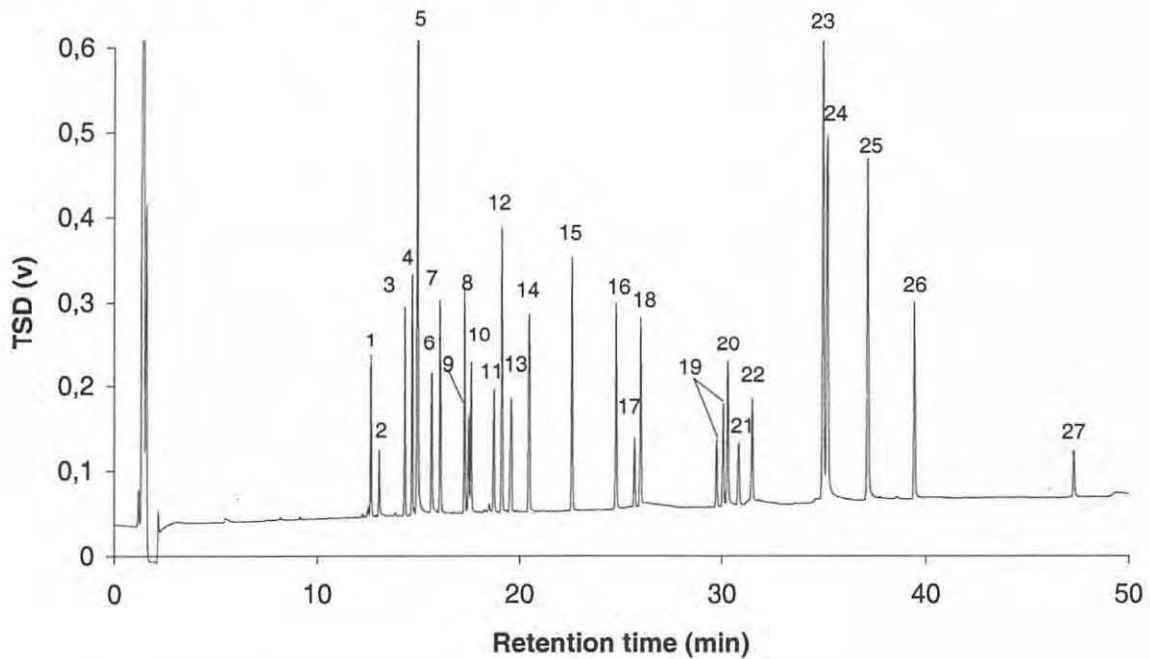
Col : **DB5** 1-déiso-atrazine, 2-trifluralin, 3-dééthyl-atrazine, 4-tebutame, 5-dicloran, 6-carbofuran, 7-simazine, 8-atrazine, 9-propazine, 10-terbuthylazine, 11-dinoseb, 12-secbumeton, 13-propanil, 14-cyprazine, 15-metribuzine, 16-alachlore, 17-prometryne, 18-fenpropidine, 19-terbutryne, 20-bromacil, 21-métolachlor, 22-irgarol, 23-hexaconazole, 24-pretilaclor, 25-oxadiazon, 26-flusilazole, 27-propiconazole, 28-chloridazon, 29-diflufenican, 30-perchloraz.

Annexe 1.

Chromatogrammes reconstitués en CPG – NPD obtenus avec une colonne (J&W DB5 ) ; analyse des mélanges d'étalons des différents composés recherchés dans les eaux de la Loire



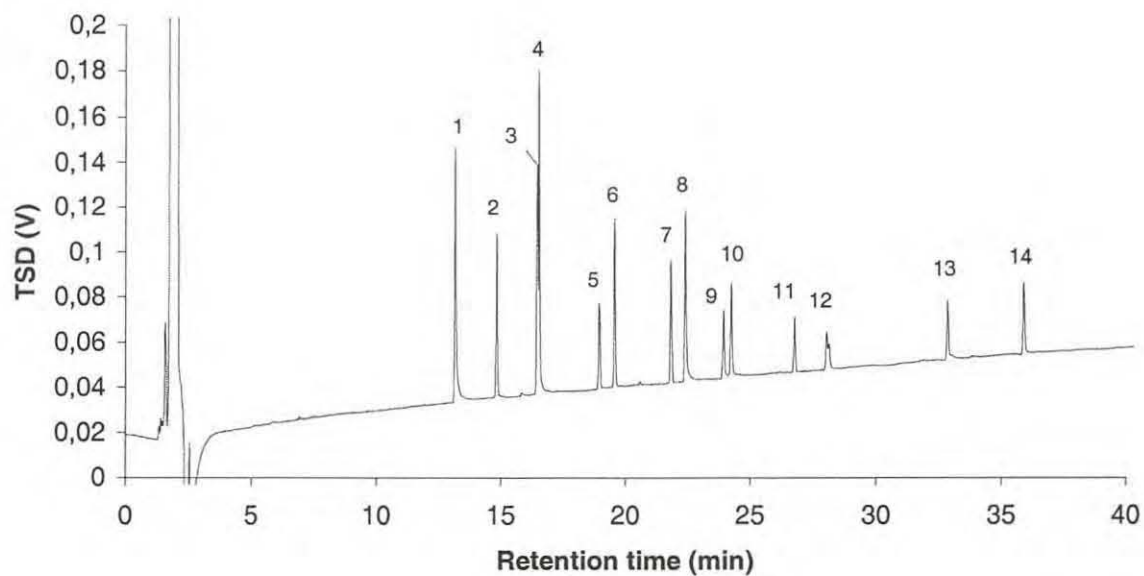
Col : DB5 1-EPTC, 2-molinate, 3-déiso-atrazine, 4-dééthyl-atrazine, 5-tébutame, 6-dicloran, 7-simazine, 8-atrazine, 9-terbuméton, 10-triétazine, 11-terbutylazine, 12-cyprazine, 13-alachlore, 14-méthyl-parathion, 15-amétryne, 16-prométryne, 17-fénitrothion, 18-métolachlor, 19-éthyl-parathion, 20-pretilachlor.



Col : DB5 1-trifluralin, 2-bromoxynil, 3-carbofuran, 4-propazine, 5-terbufos, 6-dinoseb, 7-secbuméton, 8-desmétryne, 9-propanil, 10-métribuzin, 11-fenpropidine, 12-terbutryne, 13-bromacil, 14-cyanazine, 15-irgarol, 16-hexaconazole, 17-oxadiazon, 18-flusilazole, 19-propiconazole, 20-chloridazon, 21-tébuconazole, 22-diflufenican, 23-phosalon, 24-azimphos-methyl, 25-azimphos-ethyl, 26-perchloraze, 27-deltamétrine.

Annexe 1.

Chromatogramme reconstitué en CPG – NPD obtenu avec une colonne (J&W DB5) ; analyse des mélanges d'étalons des différents composés recherchés dans les eaux de la Loire

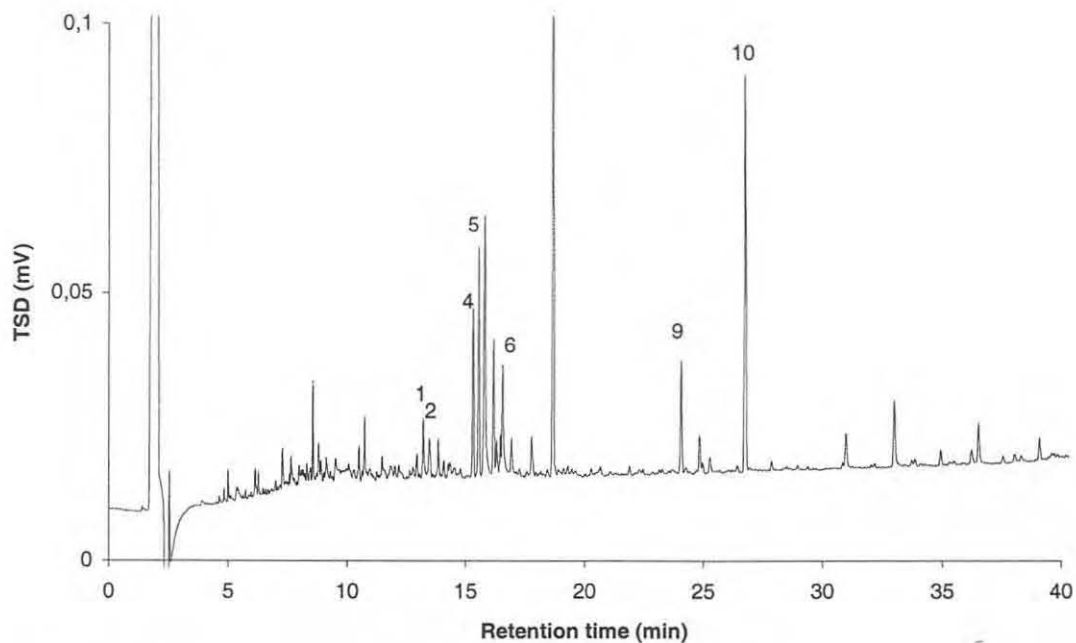


Col : **DB5** 1-TBP, 2-dicloran, 3-chlorothalonil, 4-diazinon, 5-vinchlozolin, 6-metalaxil, 7-fenpropimorph, 8-bentazon, 9-captan, 10-folpet, 11-pretilaclor, 12-cyproconazole, 13-captafol, 14-bifenox.

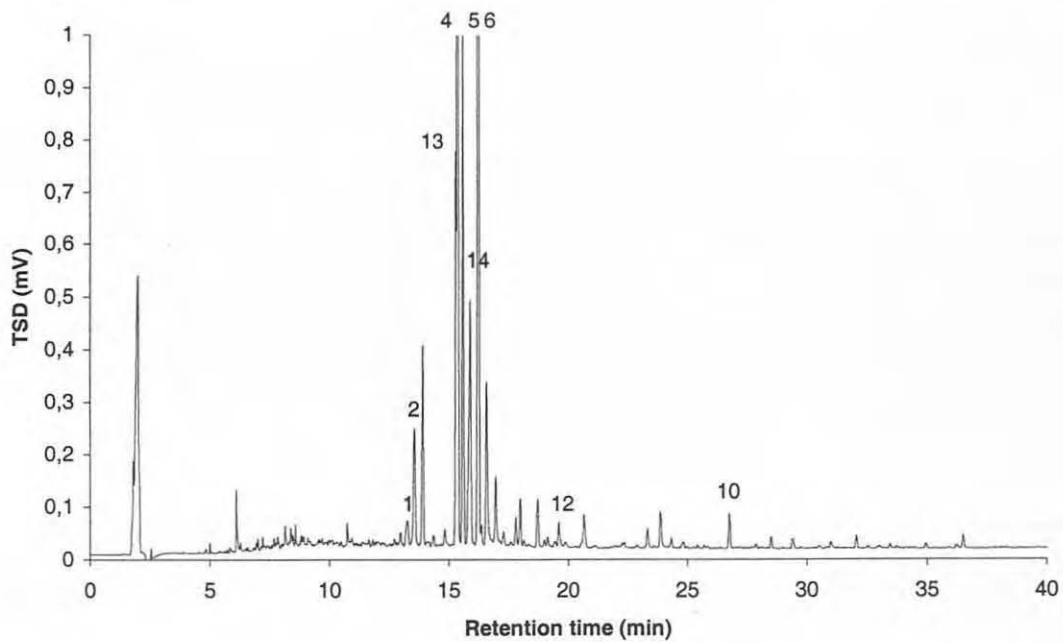


# Baie de Bourgneuf

## I-Faleron

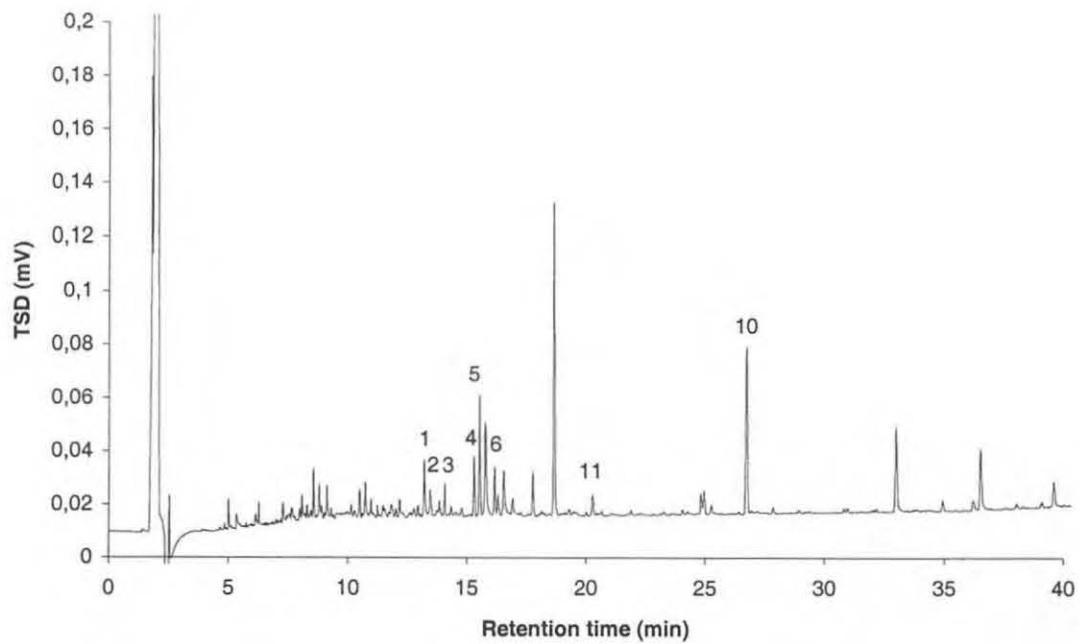


## II -Ecluse de Fresnes

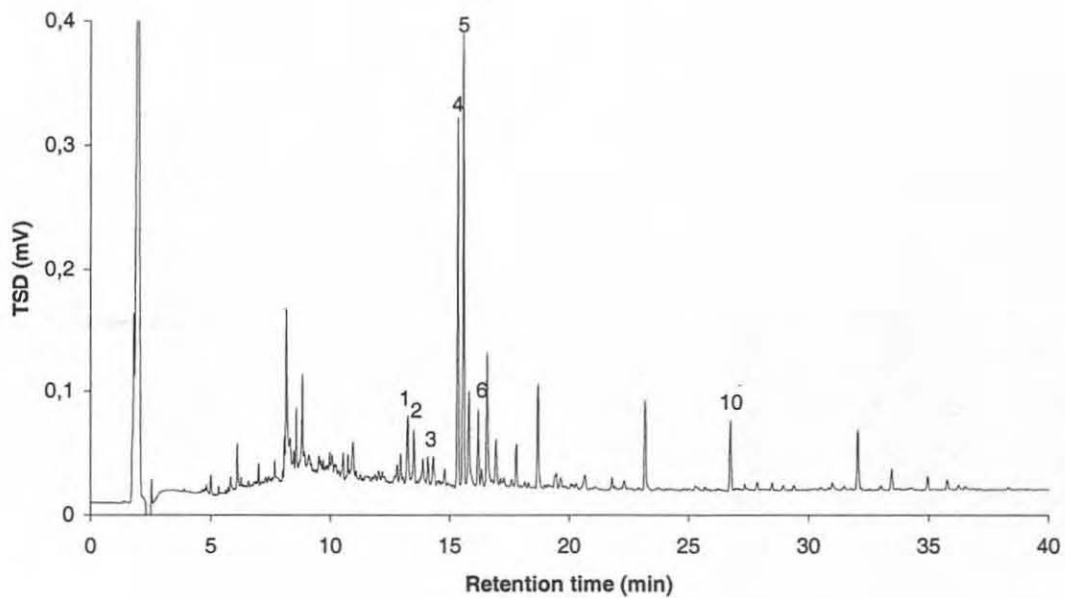


1-TBP + déisopropylatrazine (DIA), 2-dééthylatrazine, 3-tébutame, 4-simazine, 5-atrazine, 6-terbuthylazine, 7-alachlor, 8-métolachlore, 9-irgarol, 10-prétilachlore (EI), 11-fenpropidine, 12-métalaxil, 13-carbofuran, 14-terbumeton.

### Salleratine

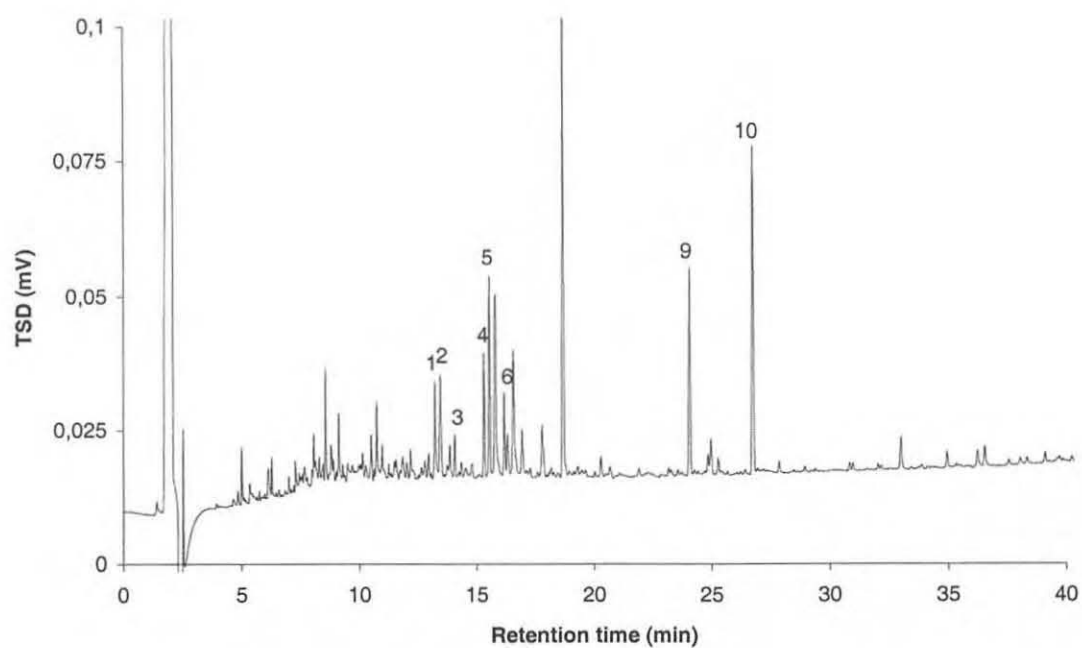


### Taillée amont



1-TBP + déisopropylatrazine (DIA), 2-dééthylatrazine, 3-tébutame, 4-simazine, 5-atrazine, 6-terbutylazine, 7-alachlor, 8-métolachlore, 9-irgarol, 10-prétilachlore (EI), 11-fenpropidine, 12-métalaxil, 13-carbofuran, 14-terbumeton.

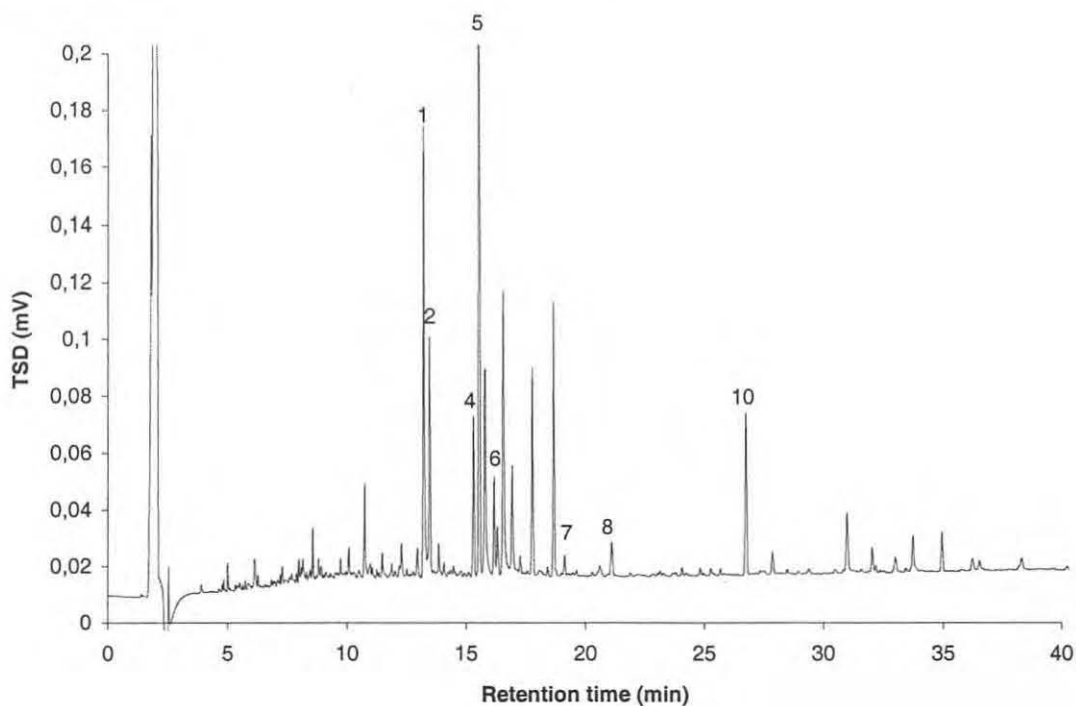
## Taillée aval



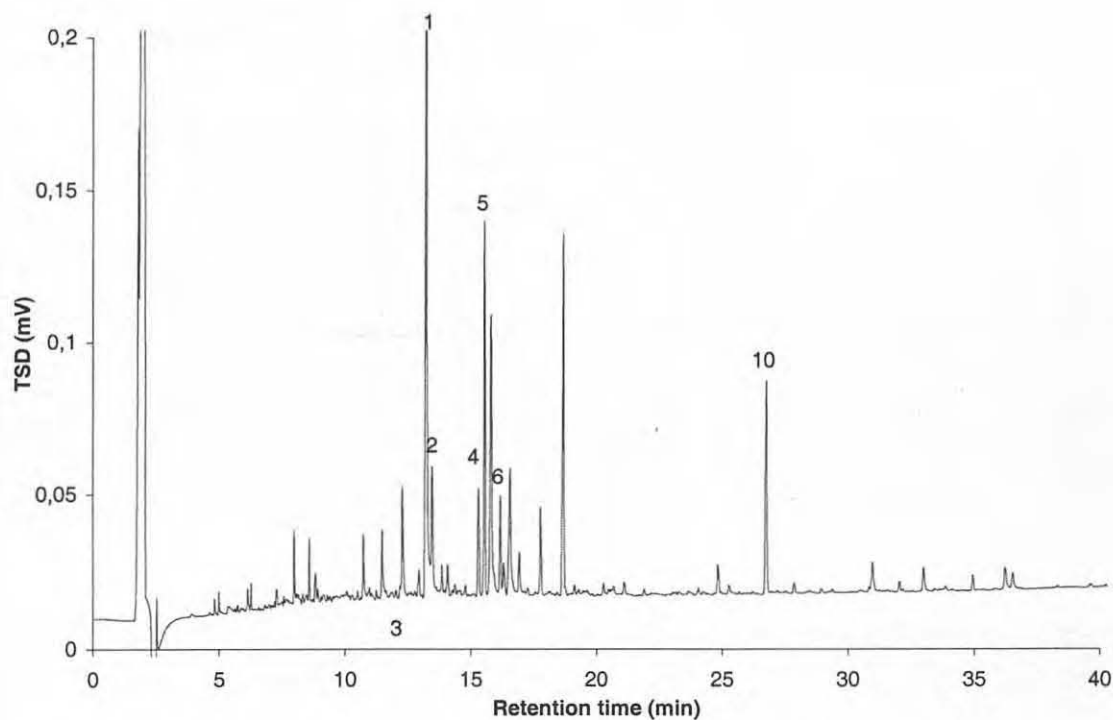
1-TBP + déisopropylatrazine (DIA), 2-dééthylatrazine, 3-tébutame, 4-simazine, 5-atrazine, 6-terbuthylazine, 7-alachlor, 8-métolachlore, 9-irgarol, 10-prétilachlore (EI), 11-fenpropidine, 12-métalaxil, 13-carbofuran, 14-terbumeton.

## Baie de l'Aiguillon

Sèvres Niortaise

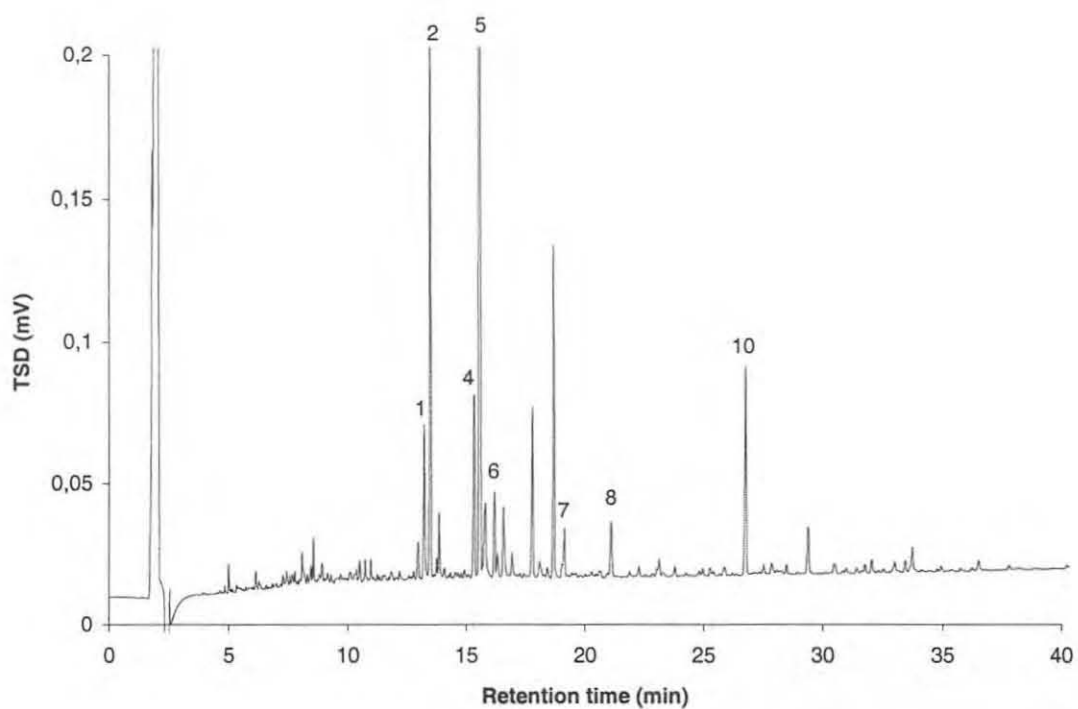


Pointe des Landes

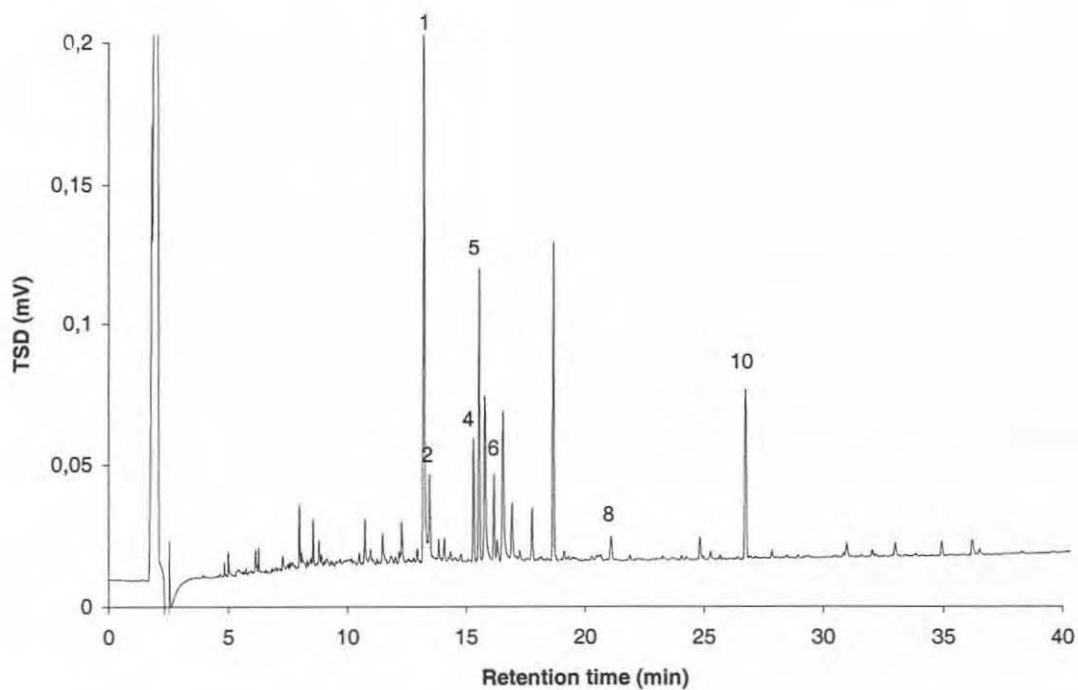


1-TBP + déisopropylatrazine (DIA), 2-dééthylatrazine, 3-tébutame, 4-simazine, 5-atrazine, 6-terbuthylazine, 7-alachlor, 8-métolachlore, 9-irgarol, 10-prétilachlore (EI), 11-fenpropidine, 12-métalaxil, 13-carbofuran, 14-terbumeton.

### Canal du Curé

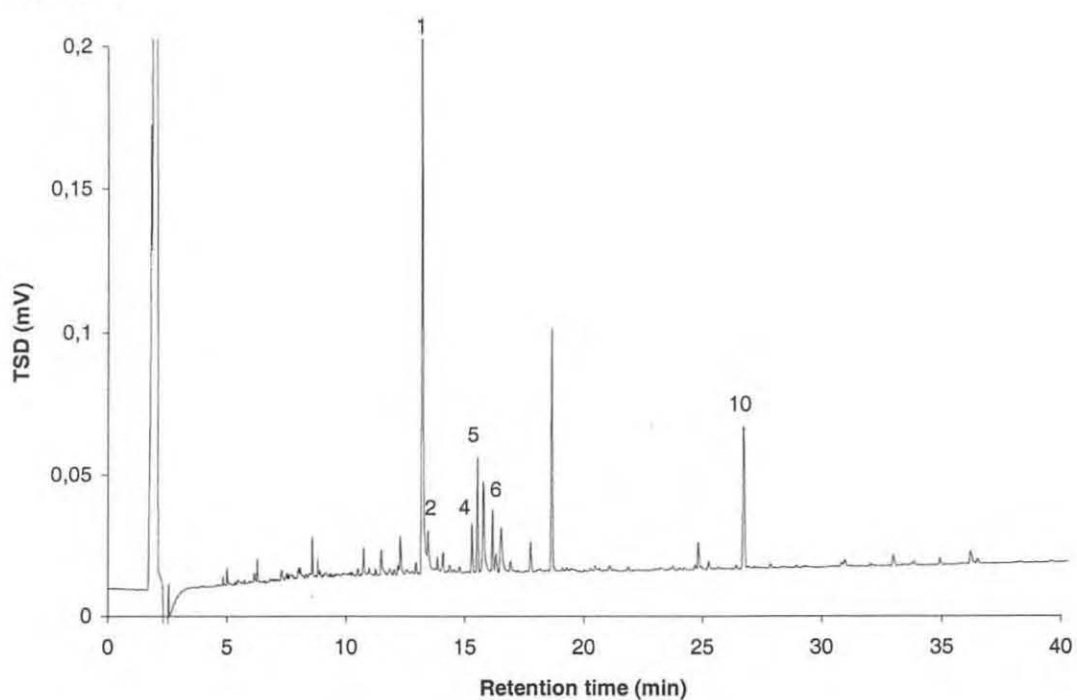


### Le Lay



1-TBP + déisopropylatrazine (DIA), 2-dééthylatrazine, 3-tébutame, 4-simazine, 5-atrazine, 6-terbuthylazine, 7-alachlor, 8-métolachlore, 9-irgarol, 10-prétilachlore (EI), 11-fenpropidine, 12-métalaxil, 13-carbofuran, 14-terbumeton.

### La Barrique



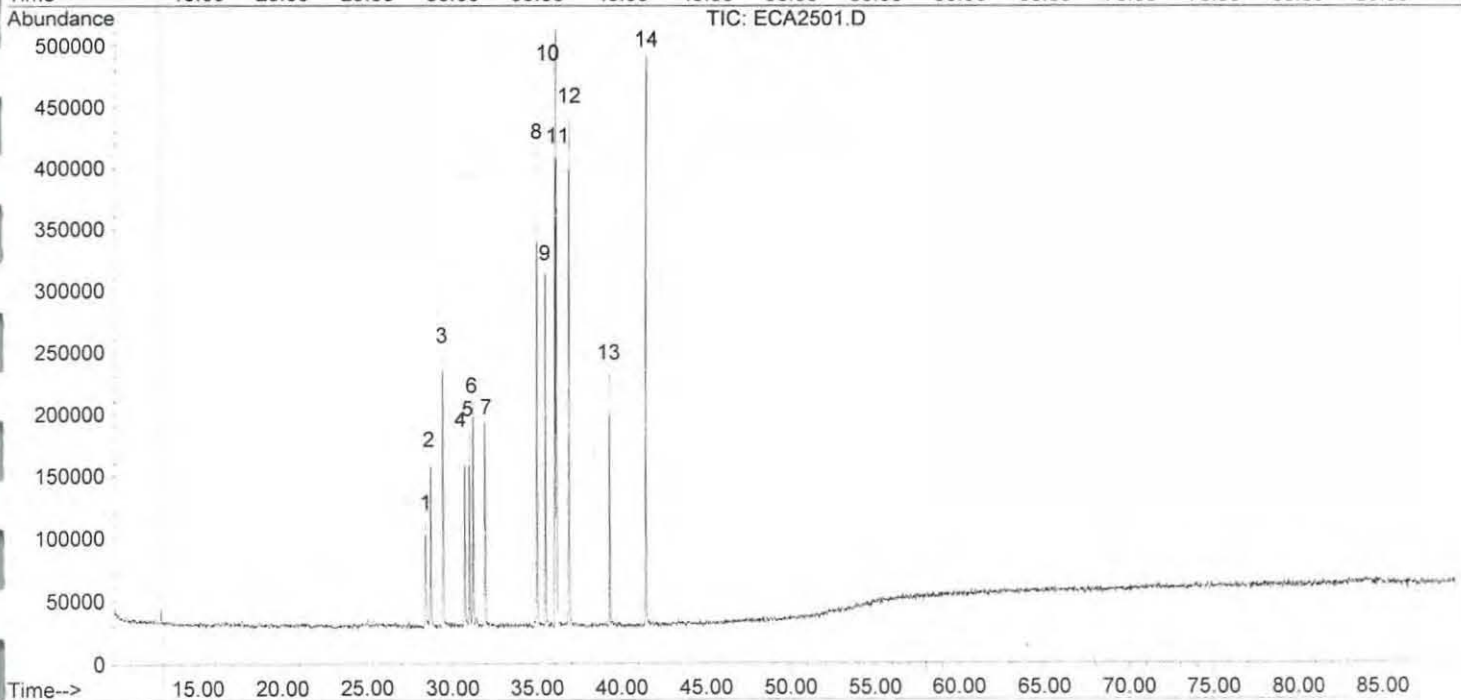
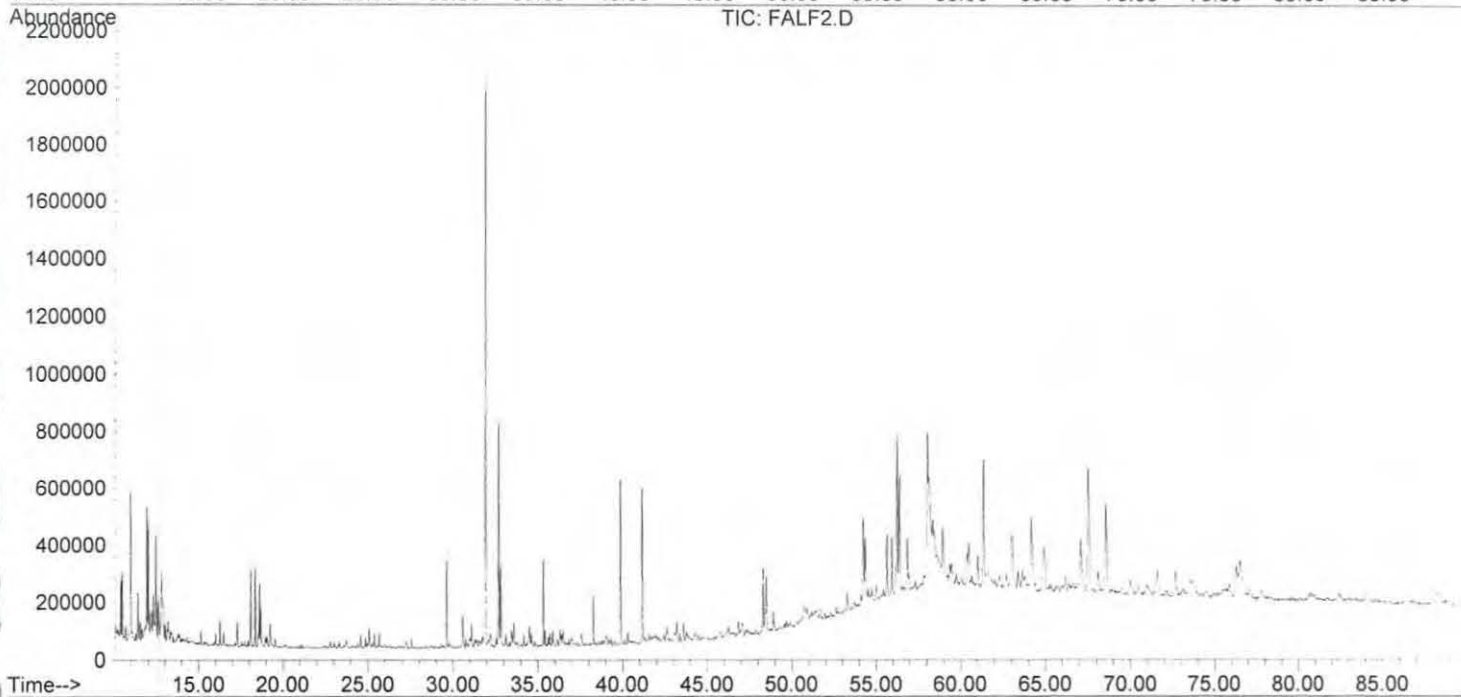
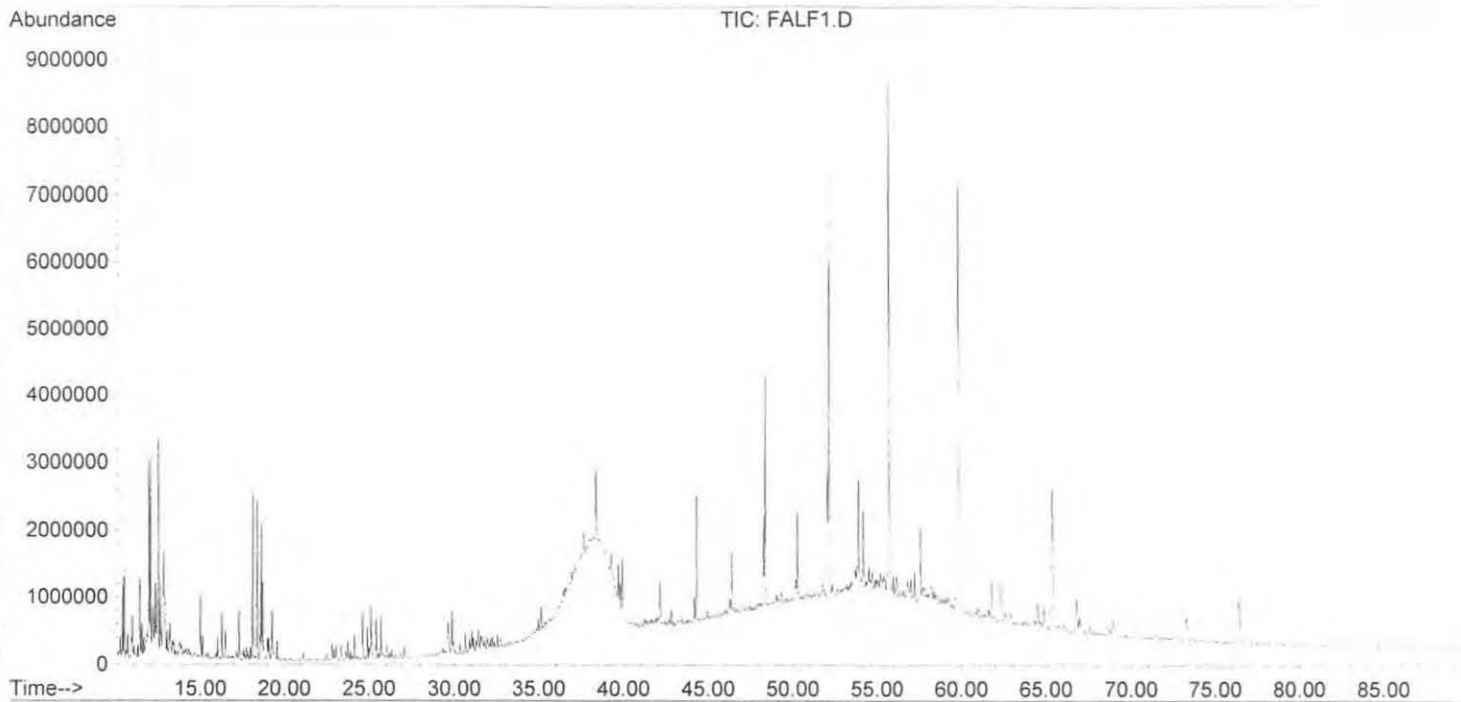
1-TBP + déisopropylatrazine (DIA), 2-dééthylatrazine, 3-tébutame, 4-simazine, 5-atrazine, 6-terbuthylazine, 7-alachlor, 8-métolachlore, 9-irgarol, 10-prétilachlore (EI), 11-fenpropidine, 12-métalaxil, 13-carbofuran, 14-terbumeton.

## Annexe 2

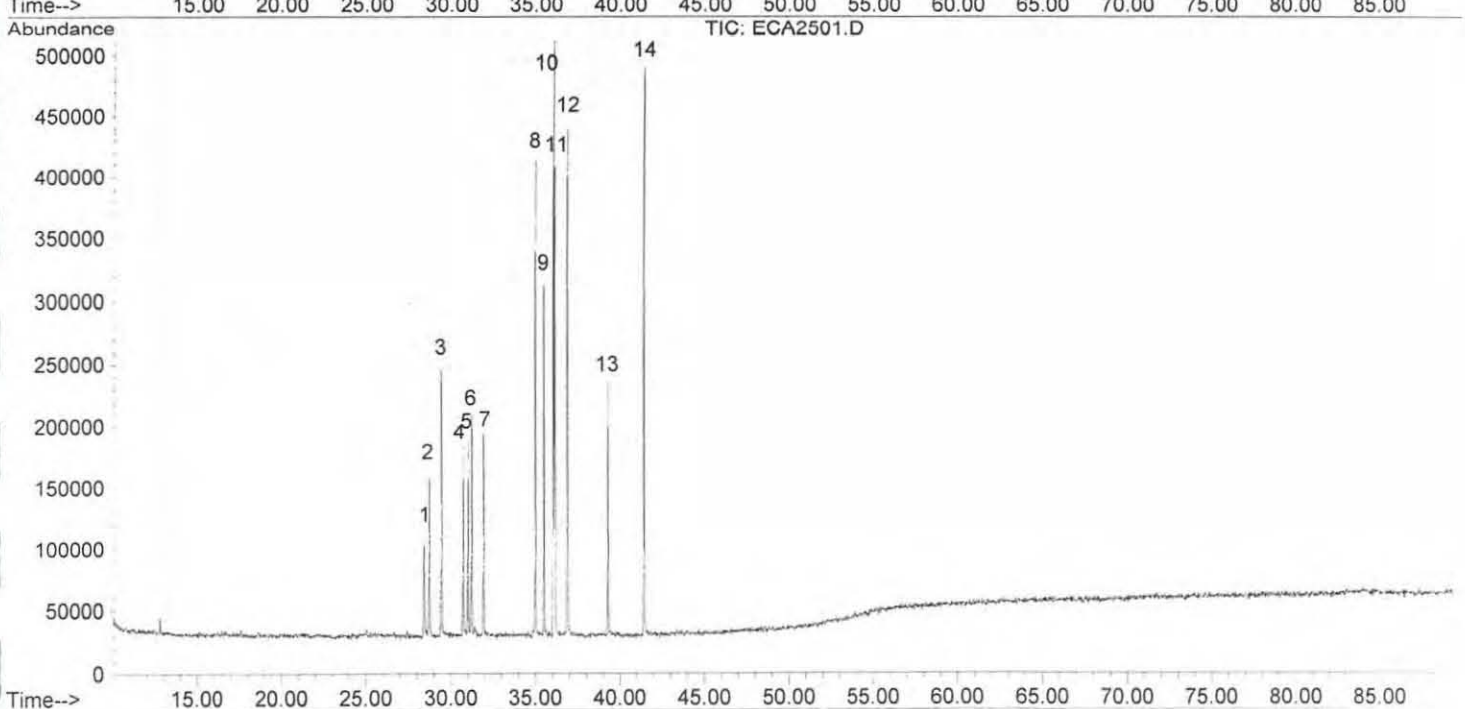
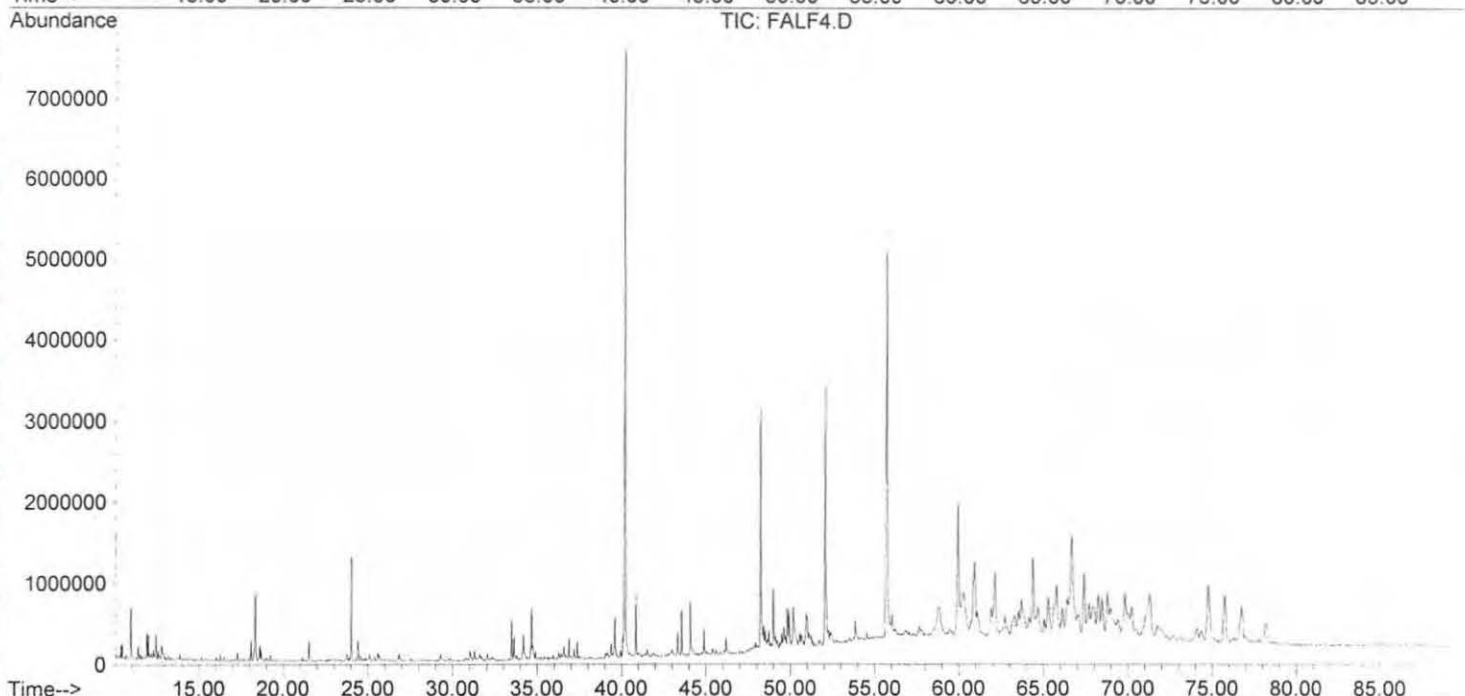
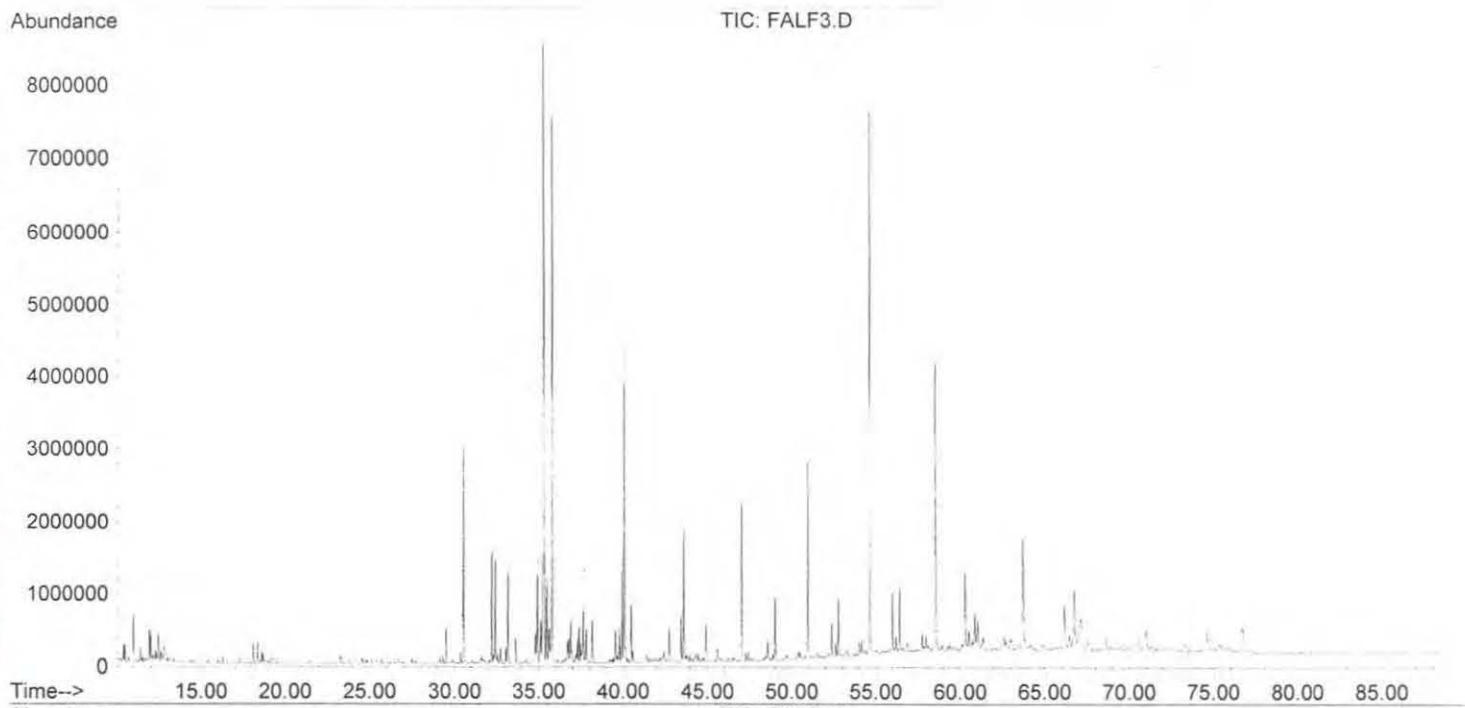
Analyses par CPG – SM des extraits organiques des sédiments (cinq fraction F1 à F5)

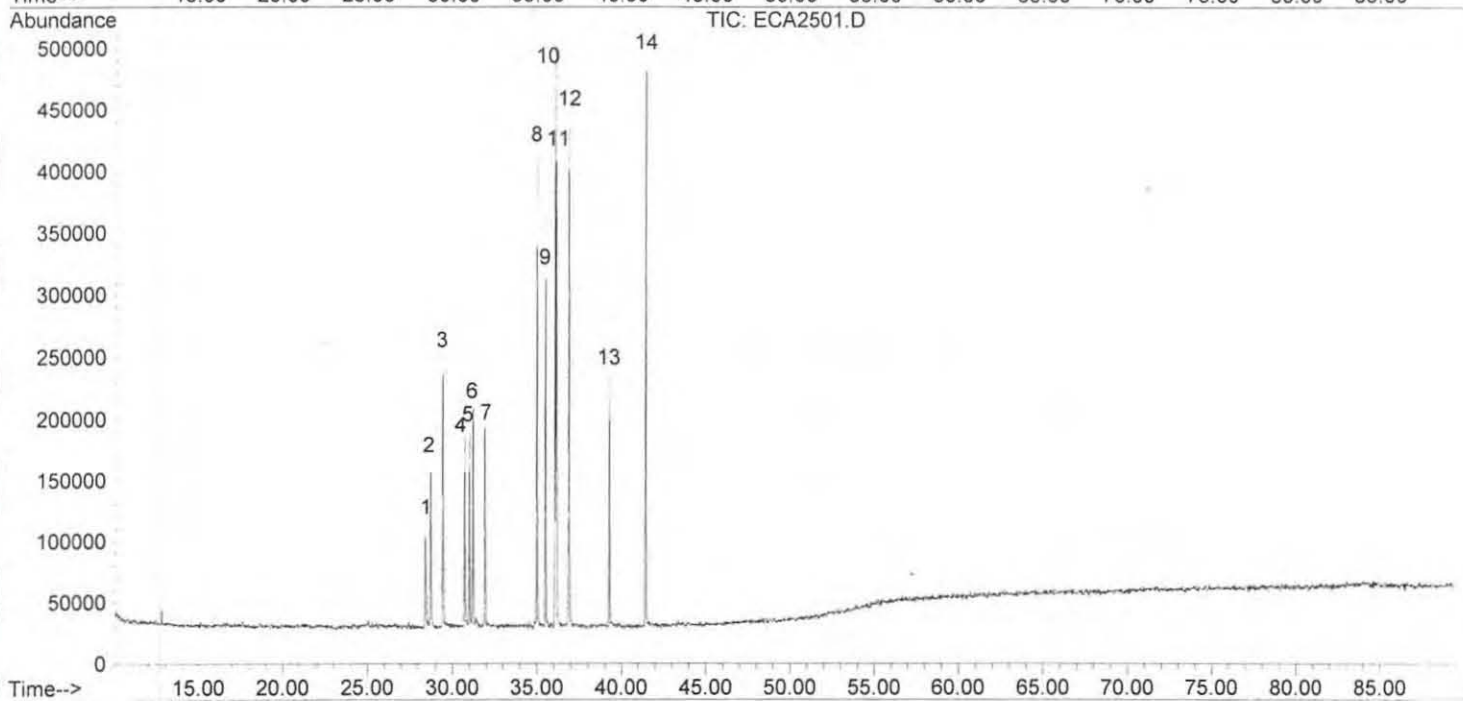
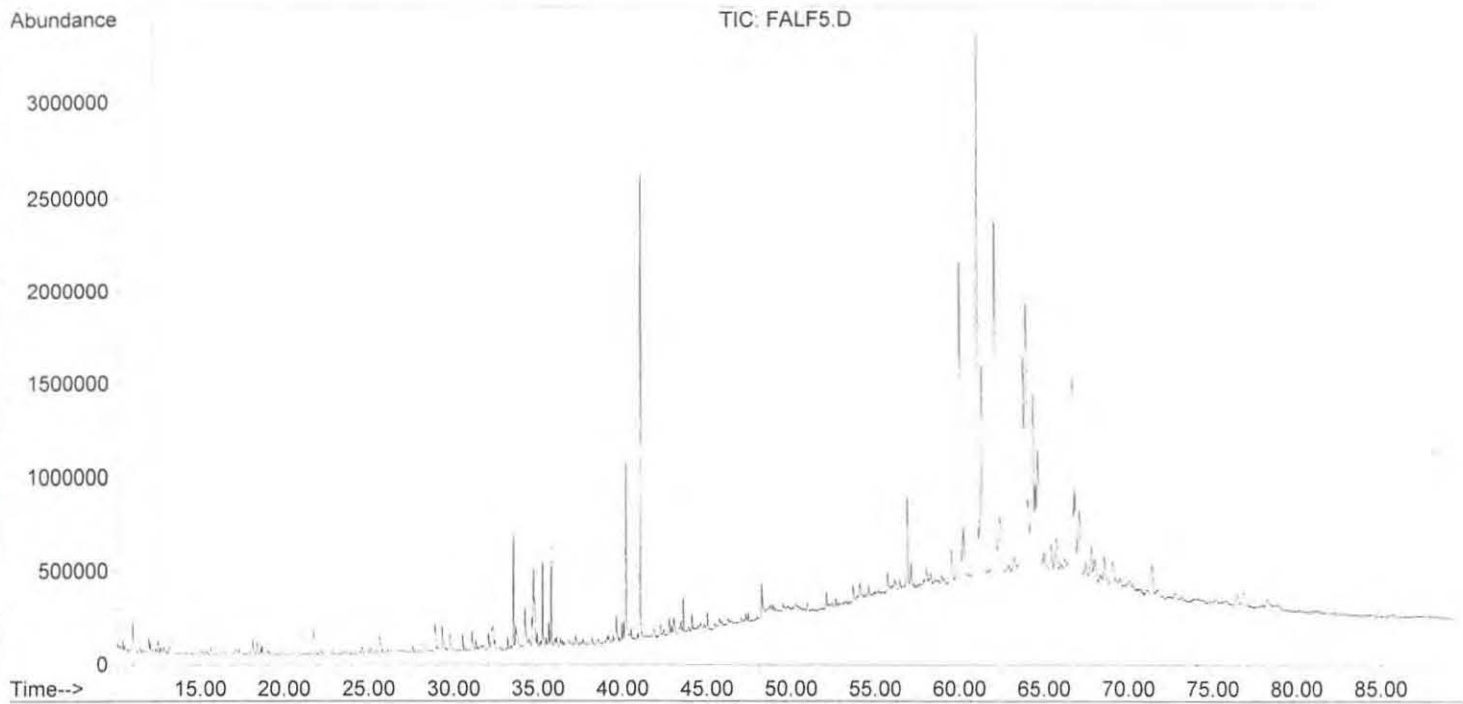
Un étalon des pesticides analysé par la CPG – SM ; identification des pics :

- 1-déisopropylatrazine
- 2-dééthylatrazine
- 3-tebutame
- 4-dicloran
- 5-simazine
- 6-atrazine
- 7-terbutylazine
- 8-alachlore
- 9-prometryne
- 10-fenpropidine
- 11-terbutryne
- 12-métolachlor
- 13-irgarol
- 14-pretilachlore





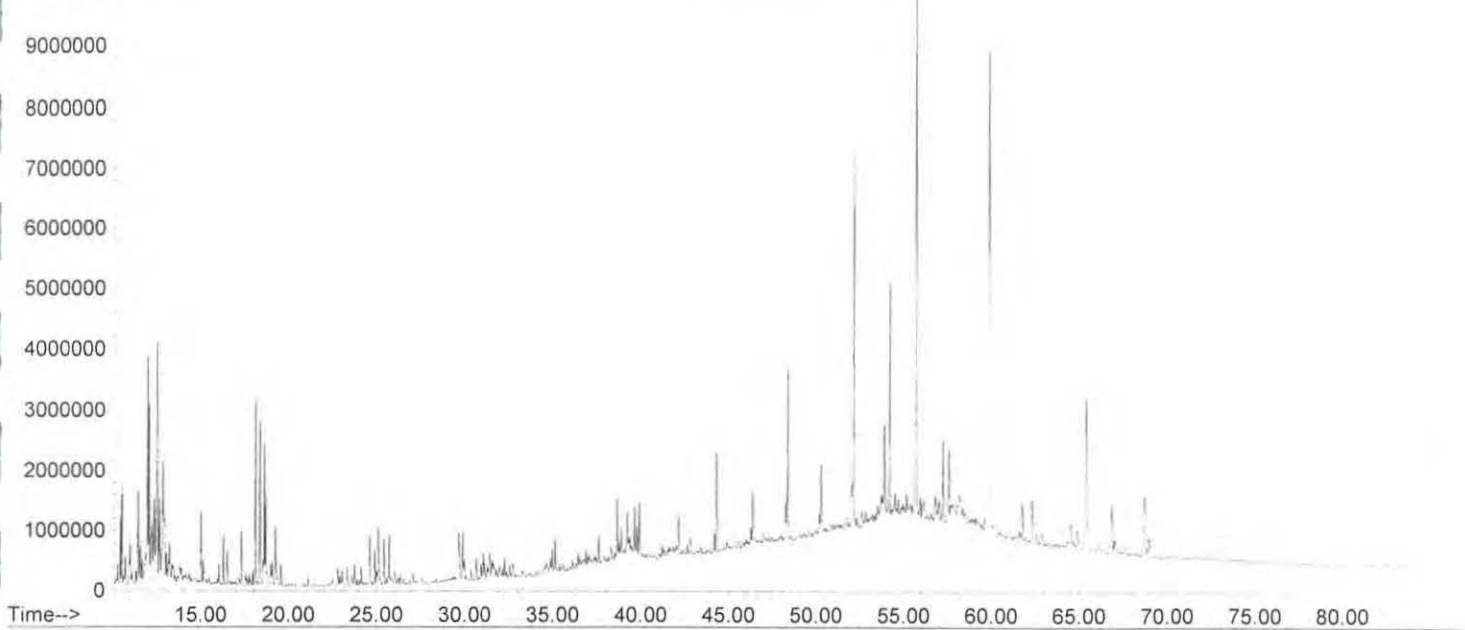




Abundance

TIC: SEVRESF1.D

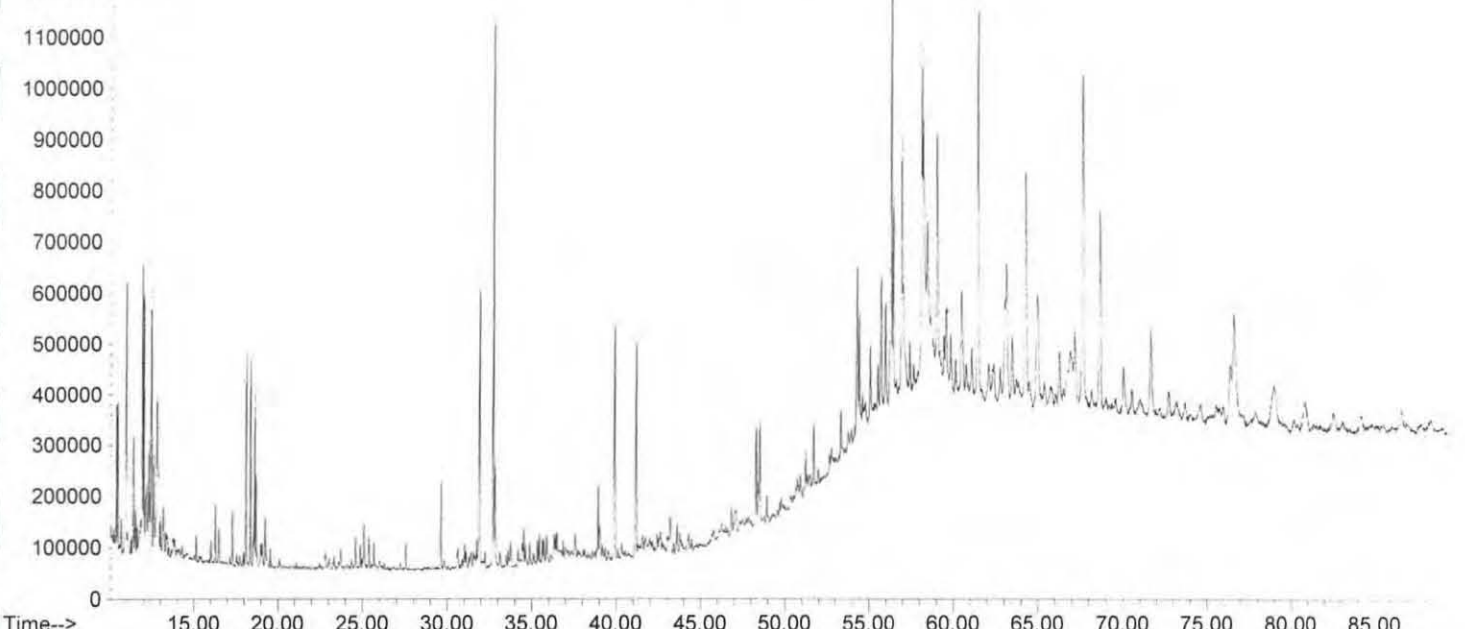
1e+07



Time-->

TIC: SEVRESF2.D

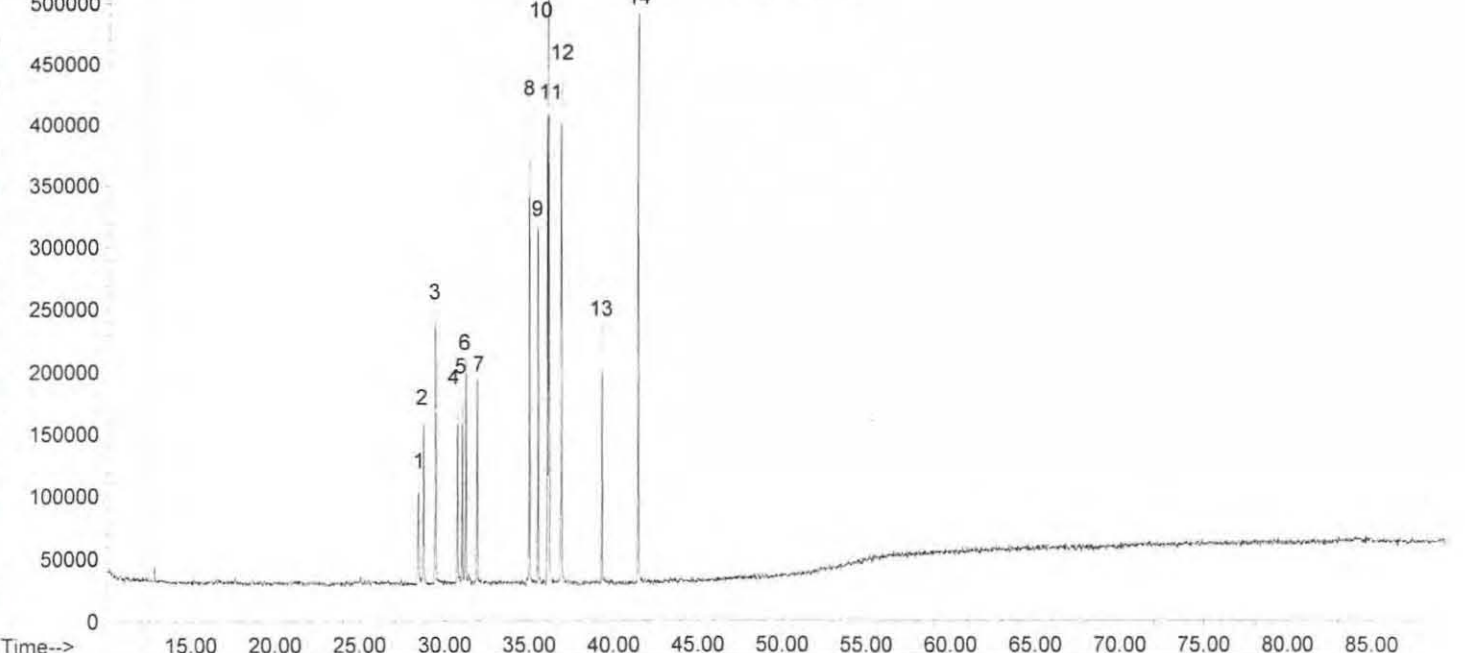
Abundance



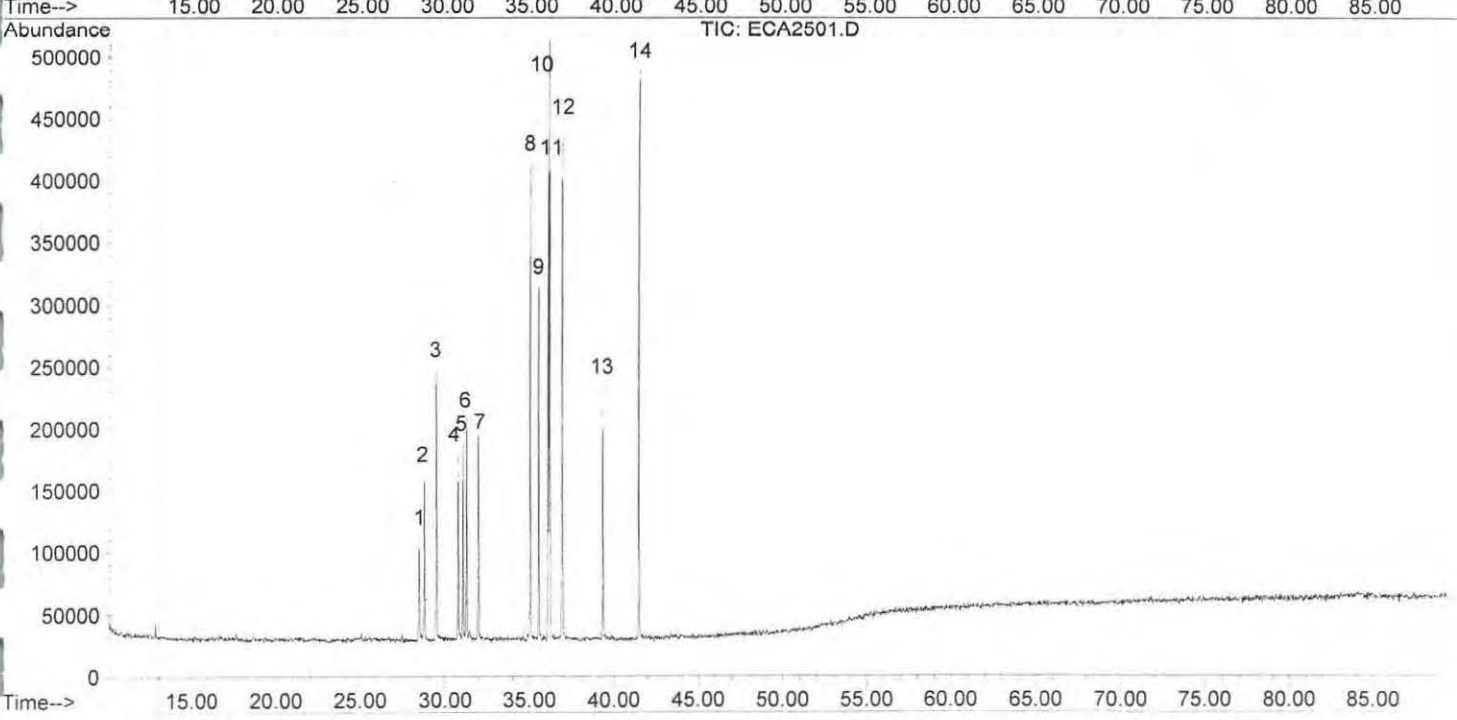
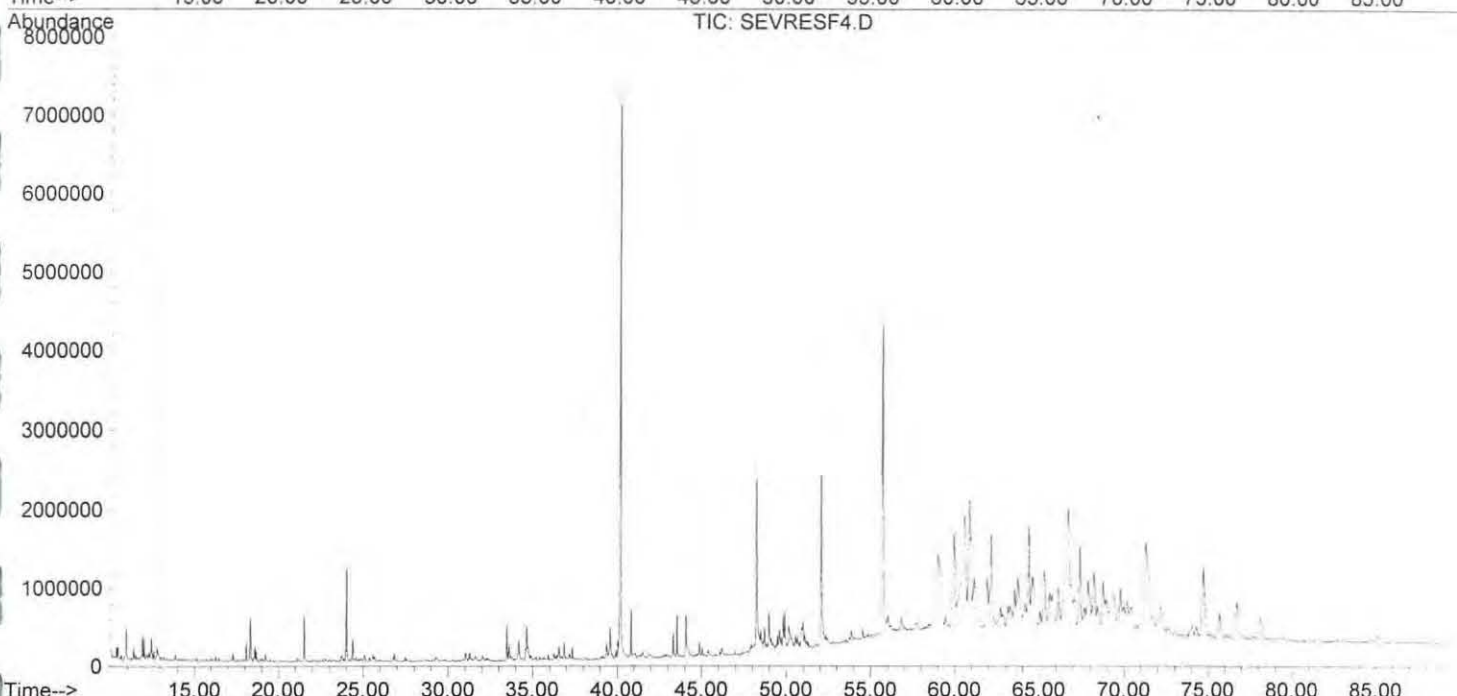
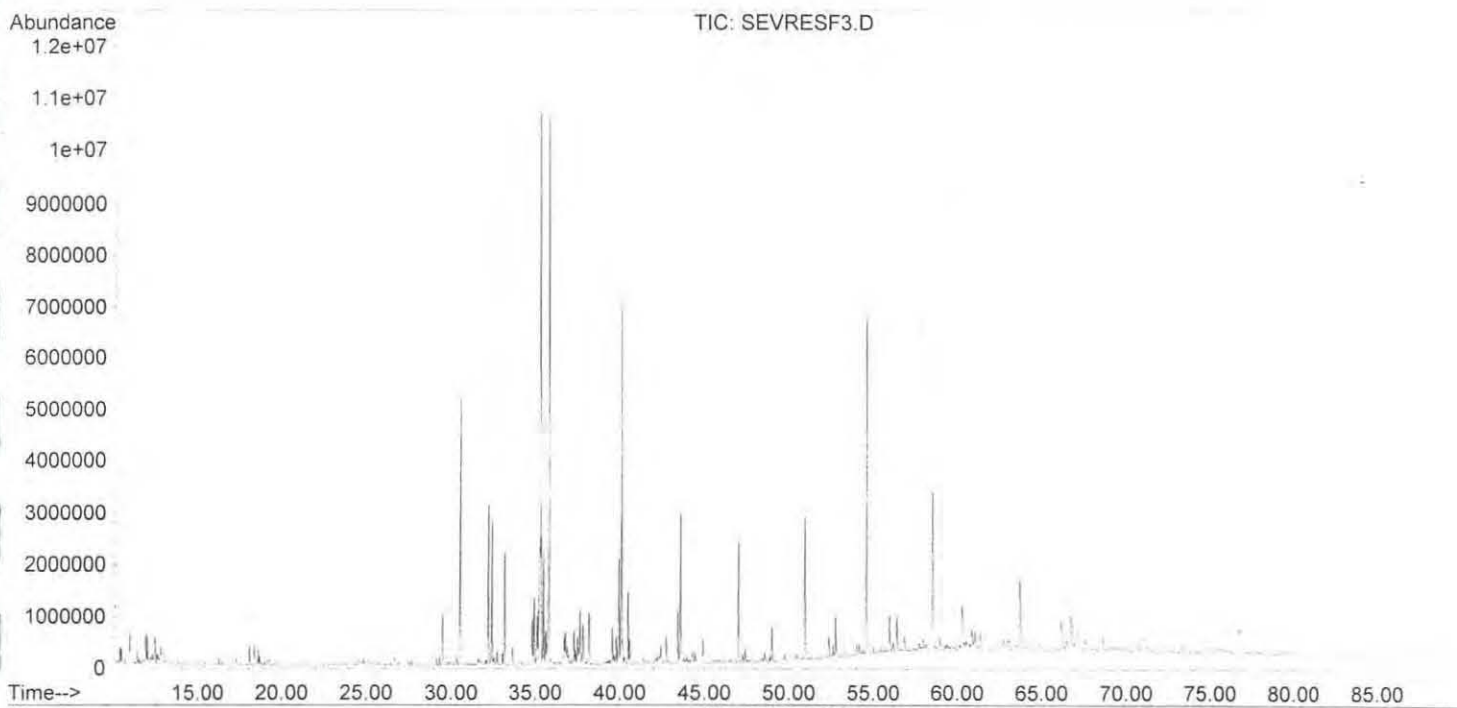
Time-->

TIC: ECA2501.D

Abundance



Time-->



Abundance  
4000000

TIC: SEVRESF5.D

3500000

3000000

2500000

2000000

1500000

1000000

500000

0

Time--> 15.00 20.00 25.00 30.00 35.00 40.00 45.00 50.00 55.00 60.00 65.00 70.00 75.00 80.00 85.00

Abundance

TIC: ECA2501.D

500000

450000

400000

350000

300000

250000

200000

150000

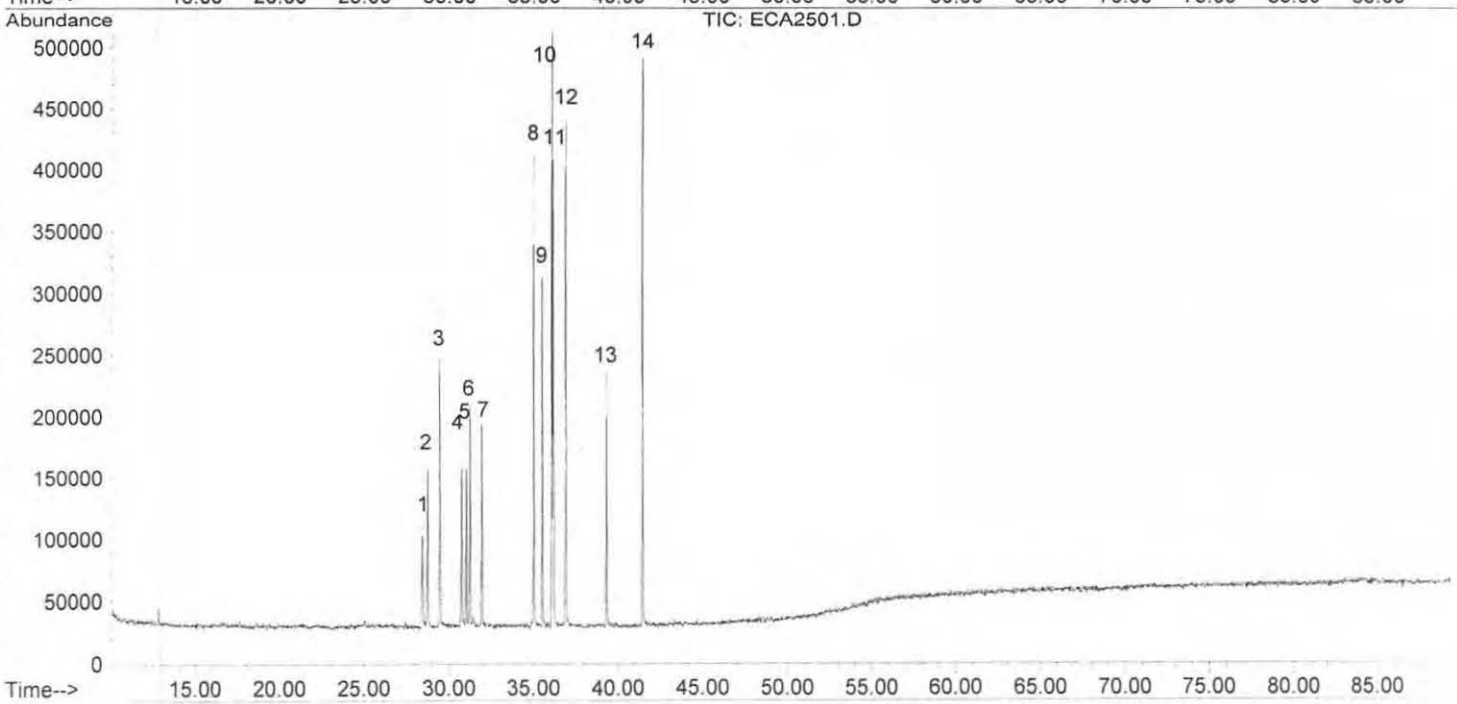
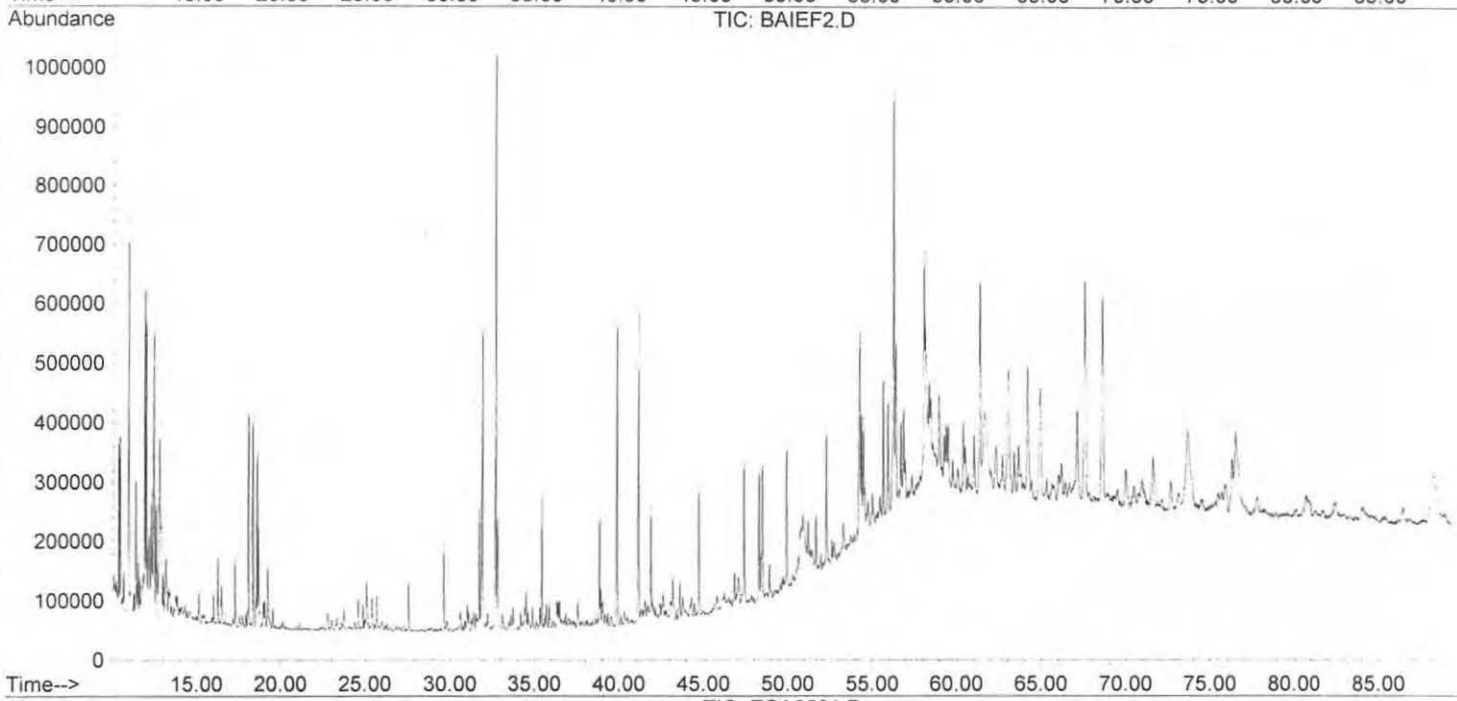
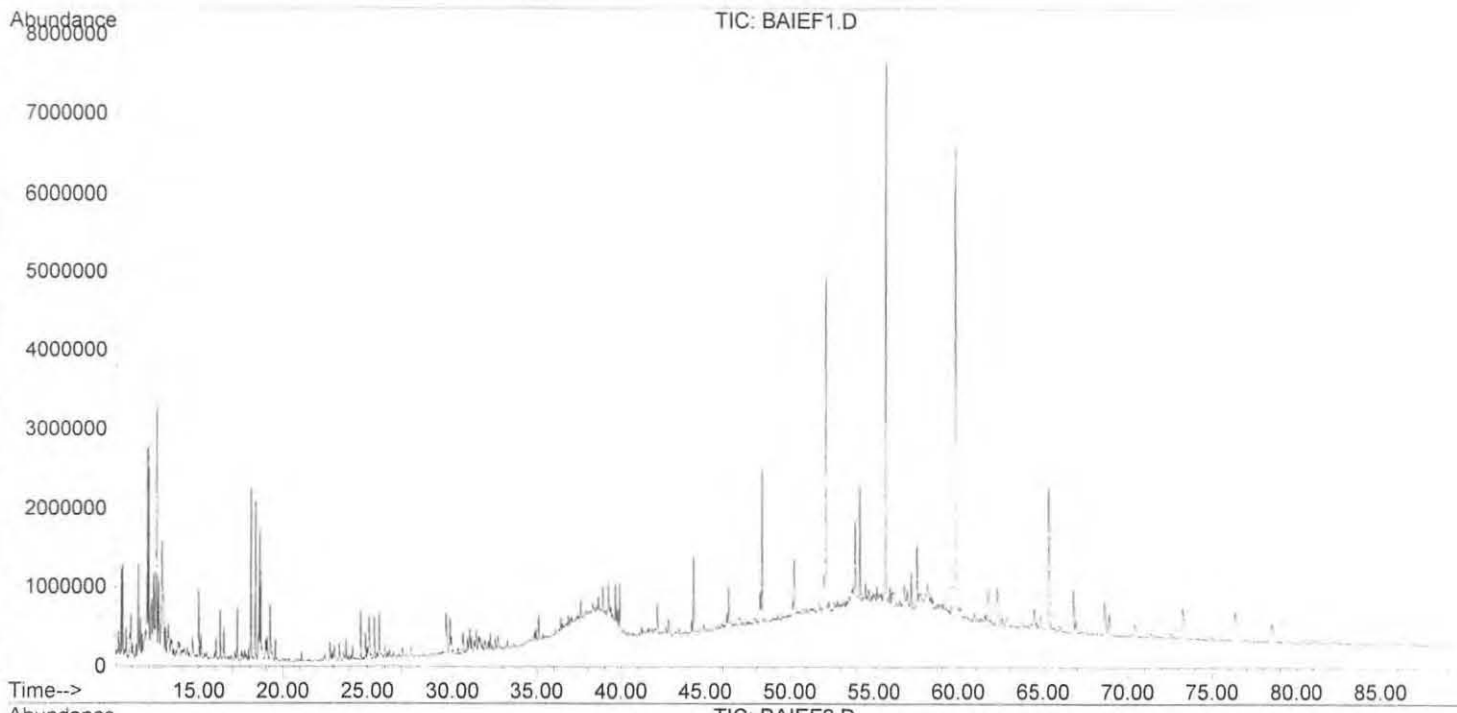
100000

50000

0

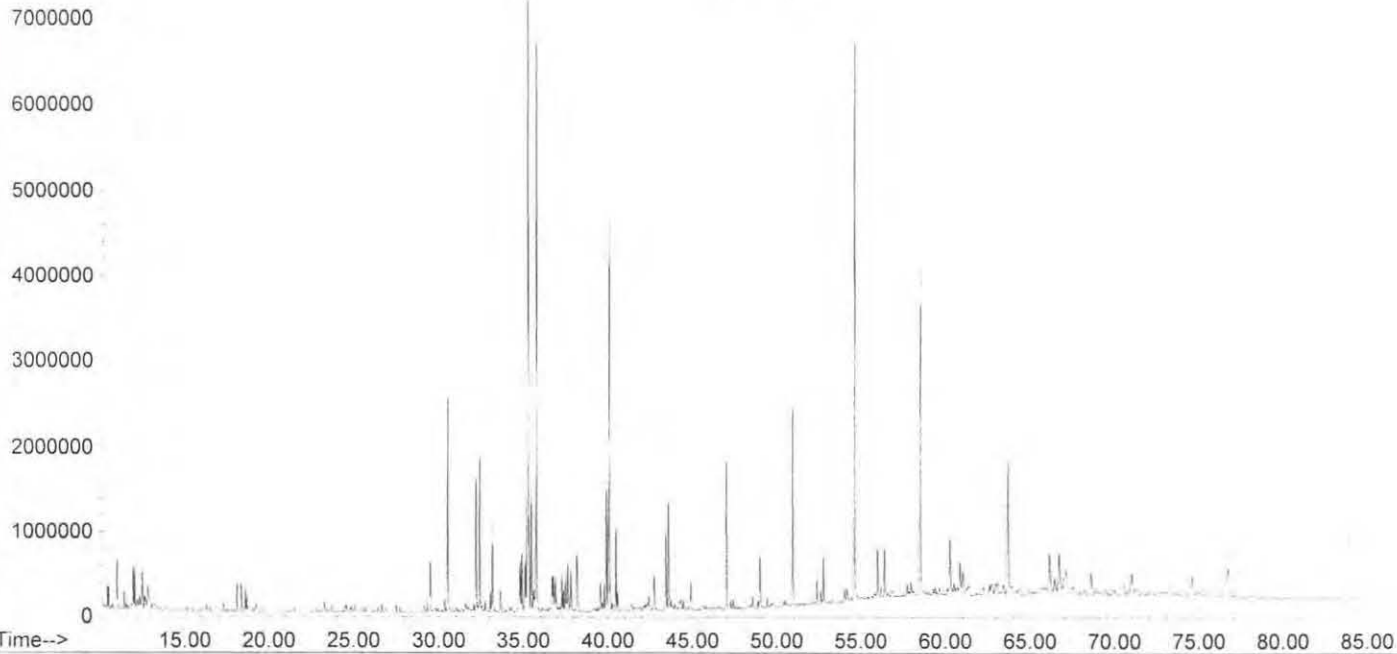
Time--> 15.00 20.00 25.00 30.00 35.00 40.00 45.00 50.00 55.00 60.00 65.00 70.00 75.00 80.00 85.00





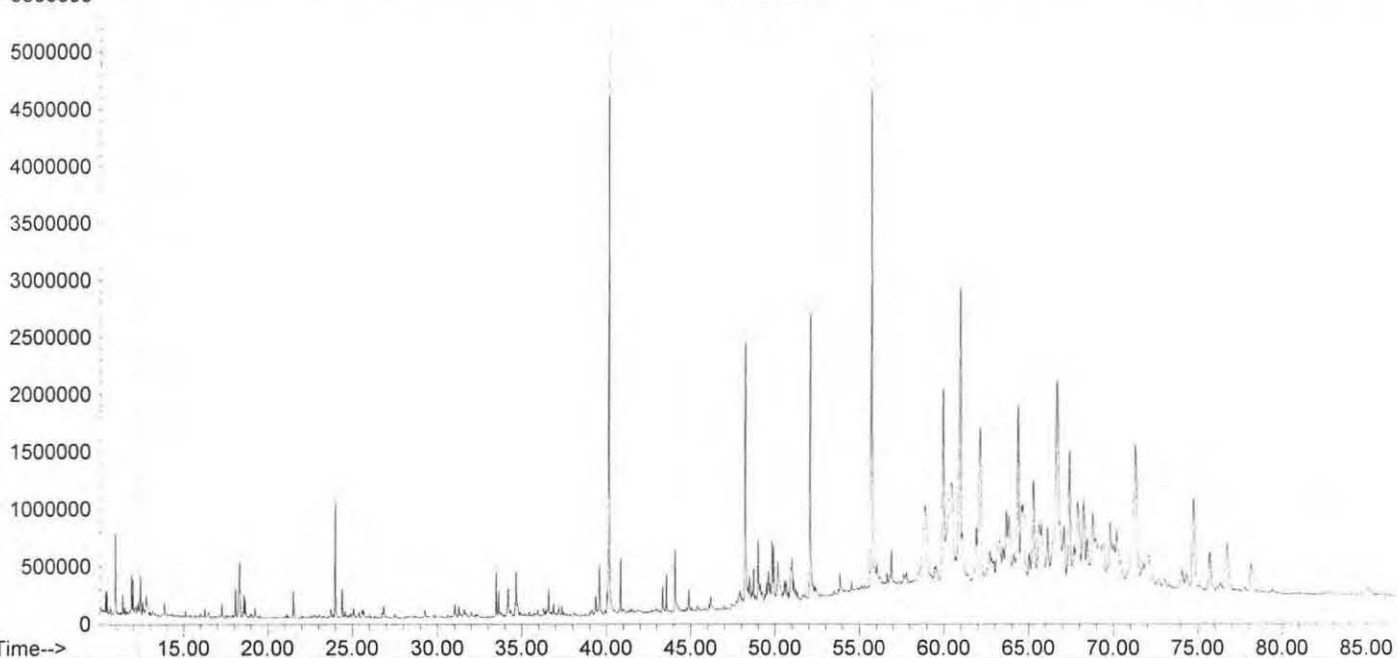
Abundance

TIC: BAIEF3.D



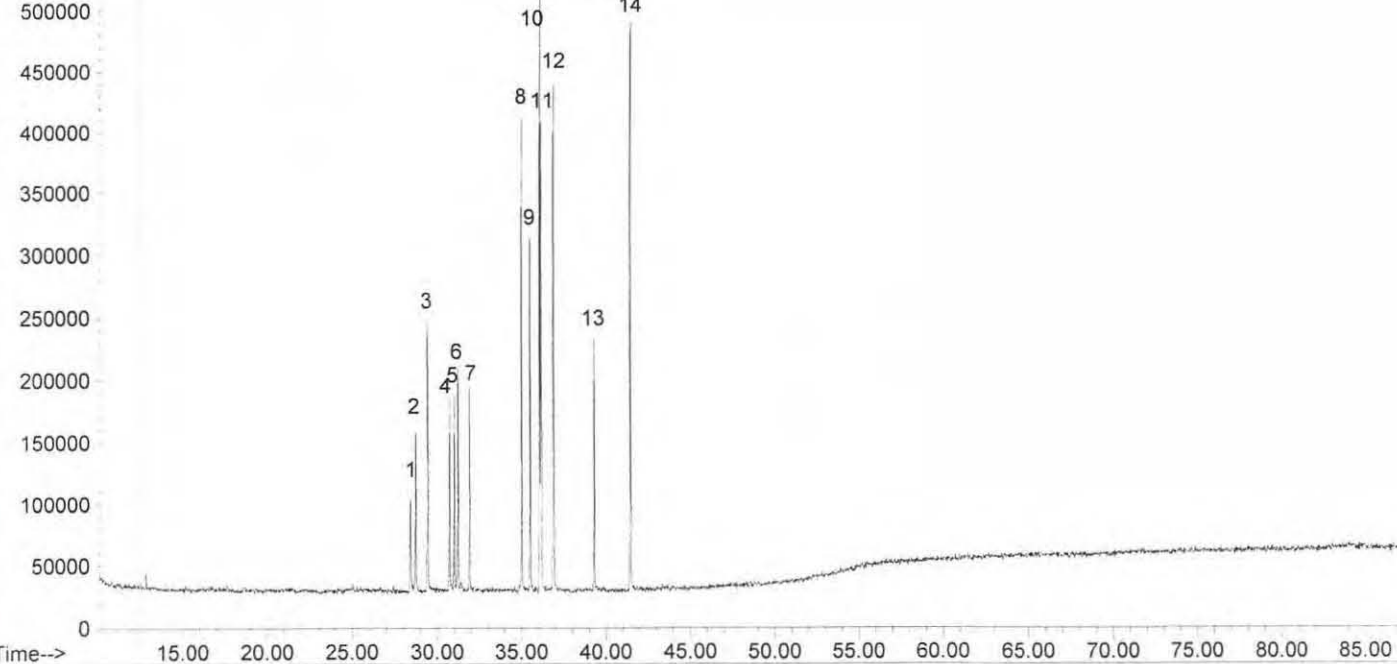
Abundance

TIC: BAIEF4.D



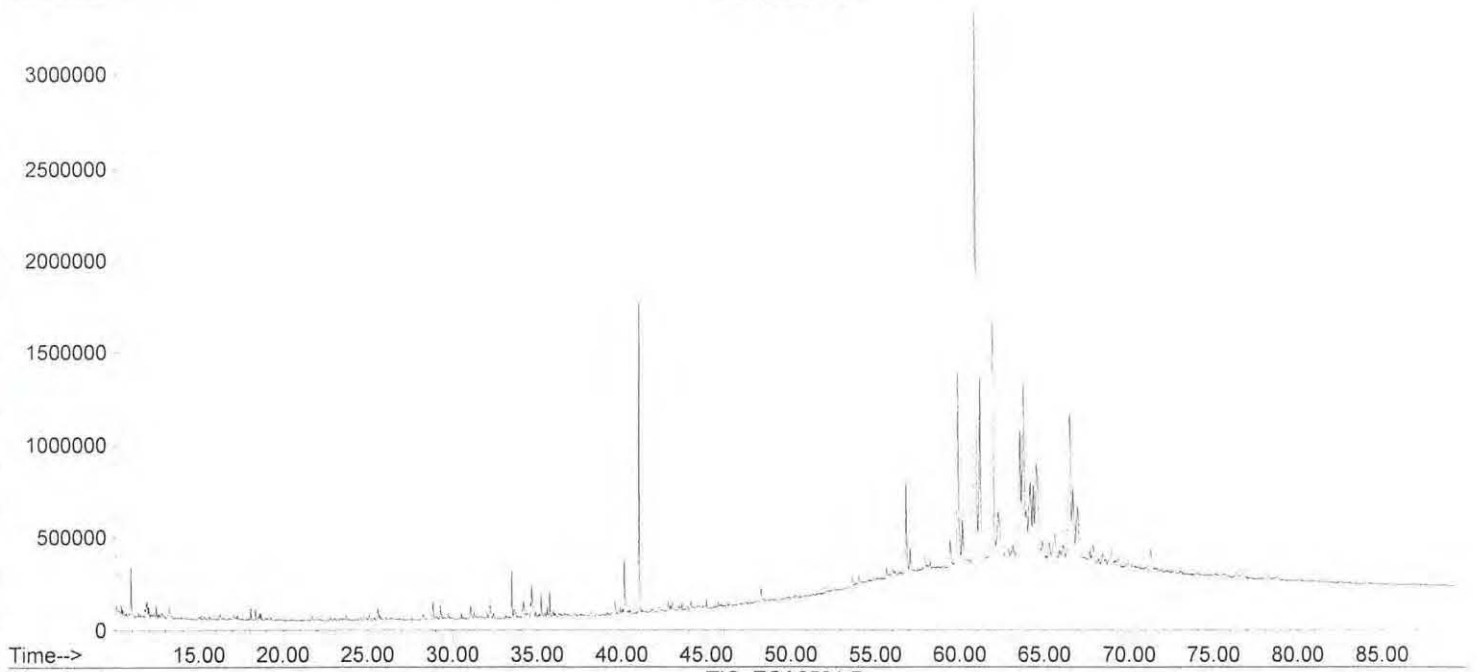
Abundance

TIC: ECA2501.D



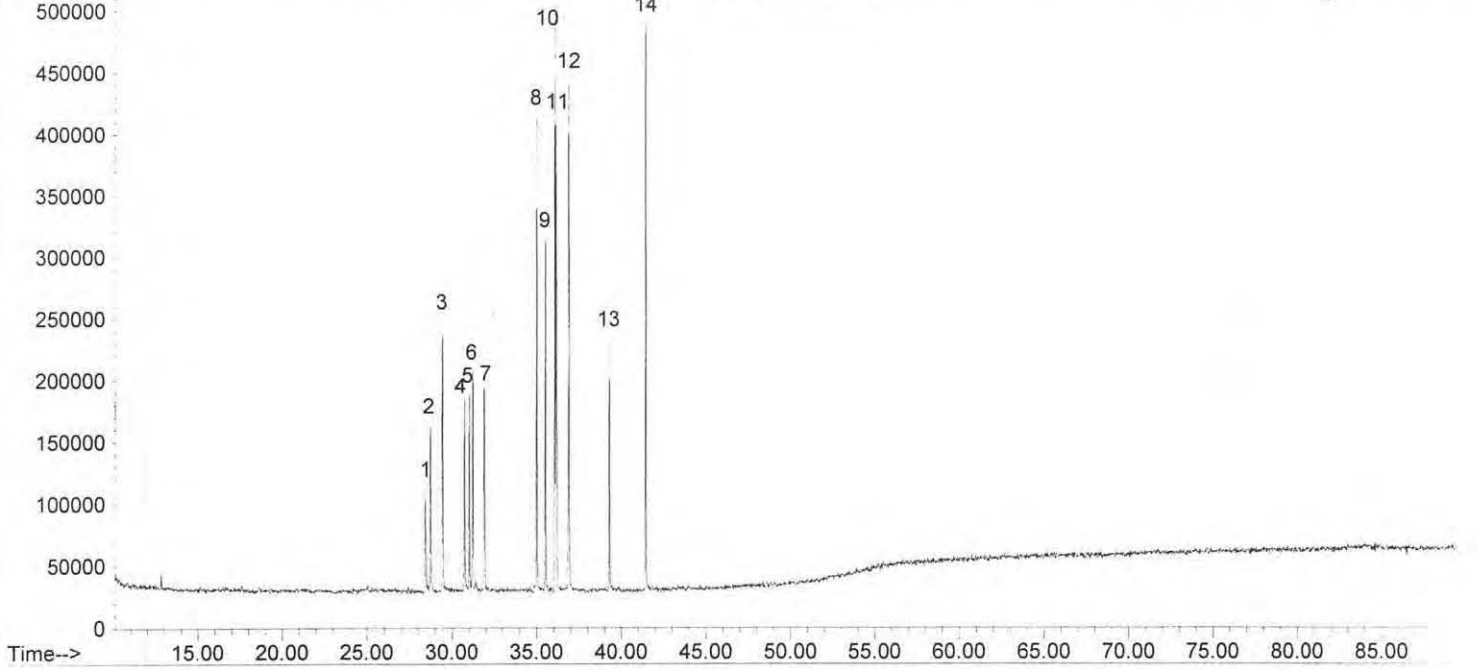
Abundance

TIC: BAIEF5.D



Abundance

TIC: ECA2501.D

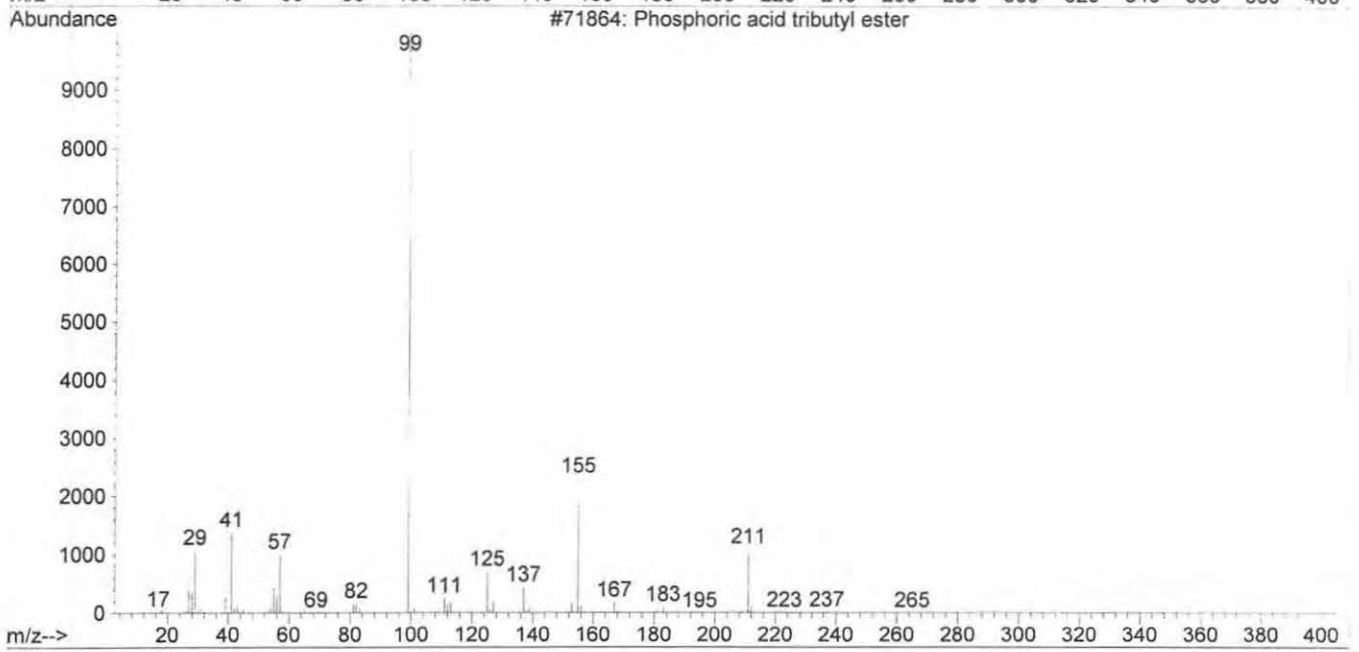
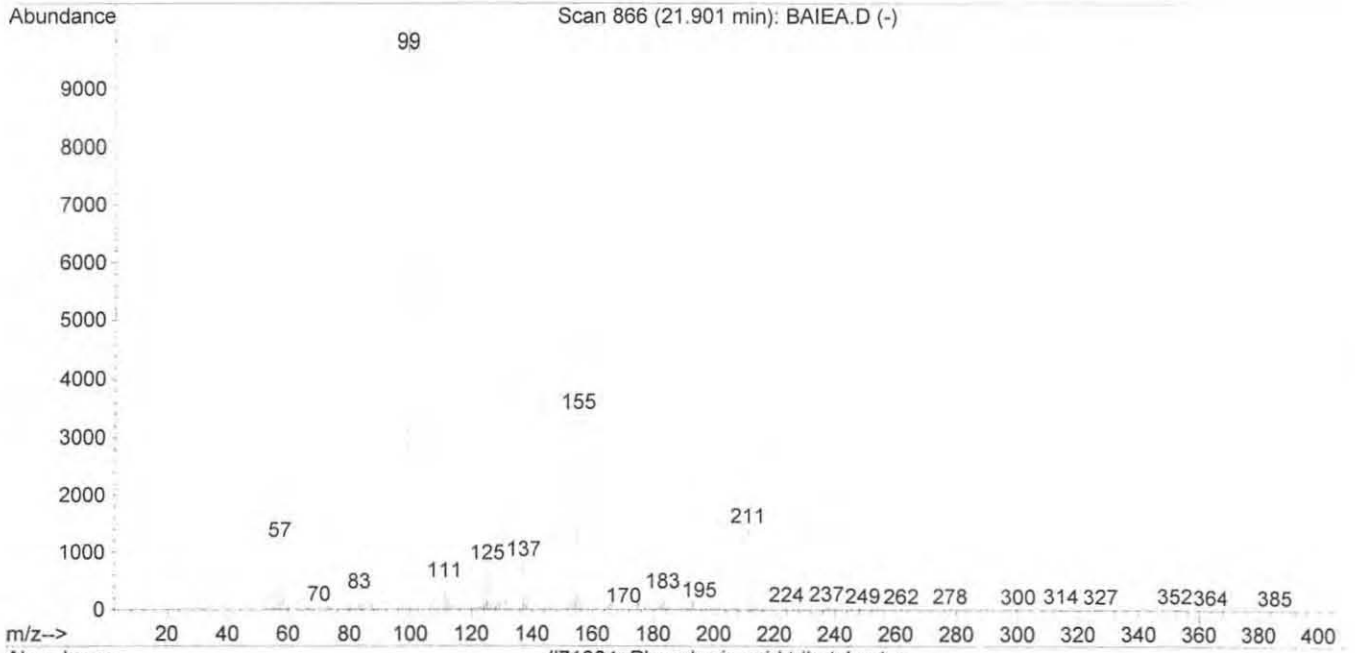




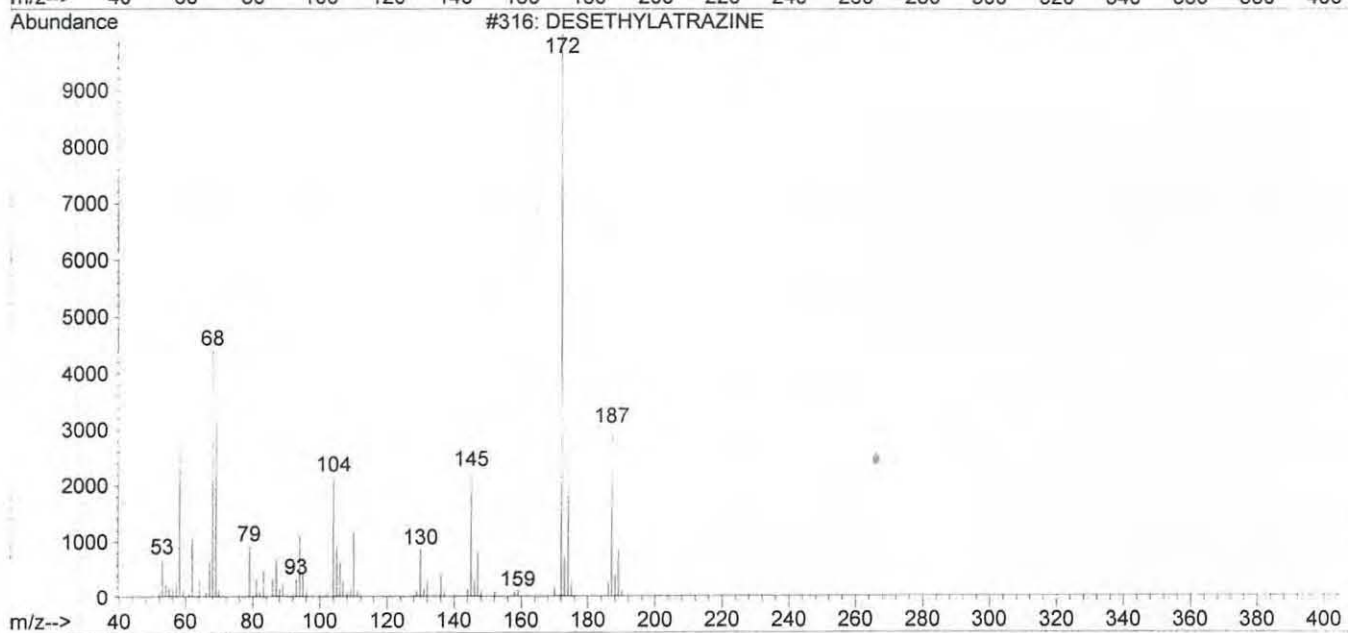
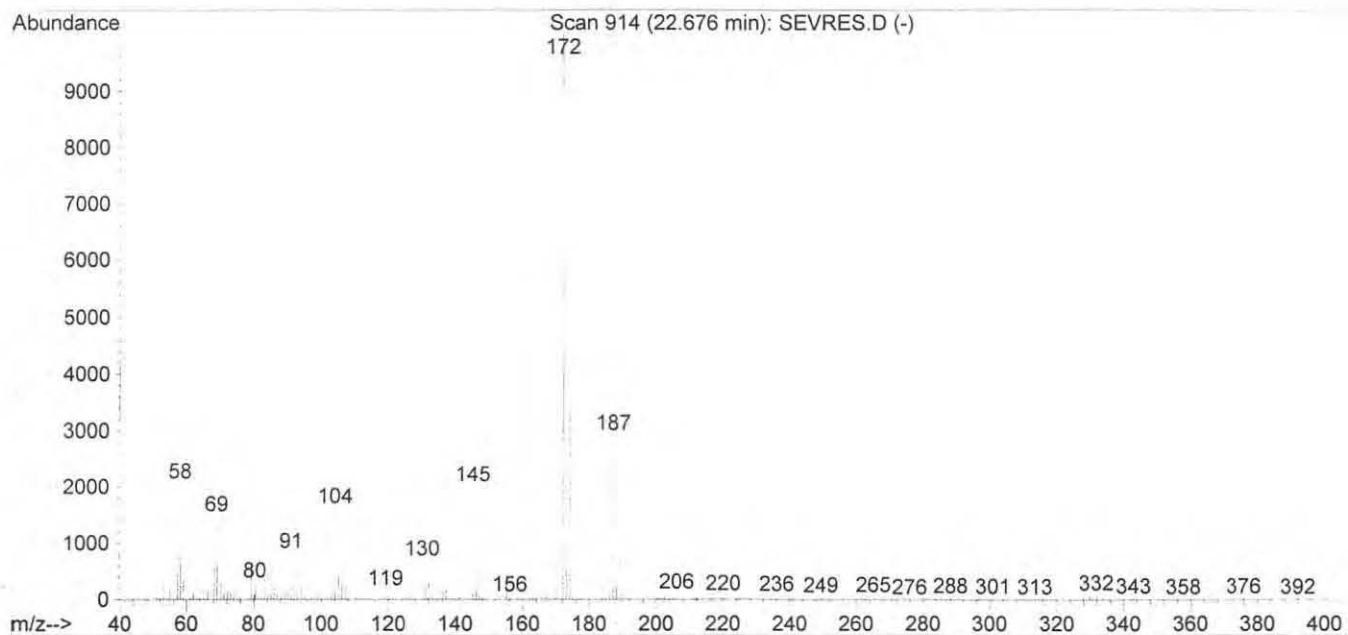
**Annexe 3**

Spectres des masses

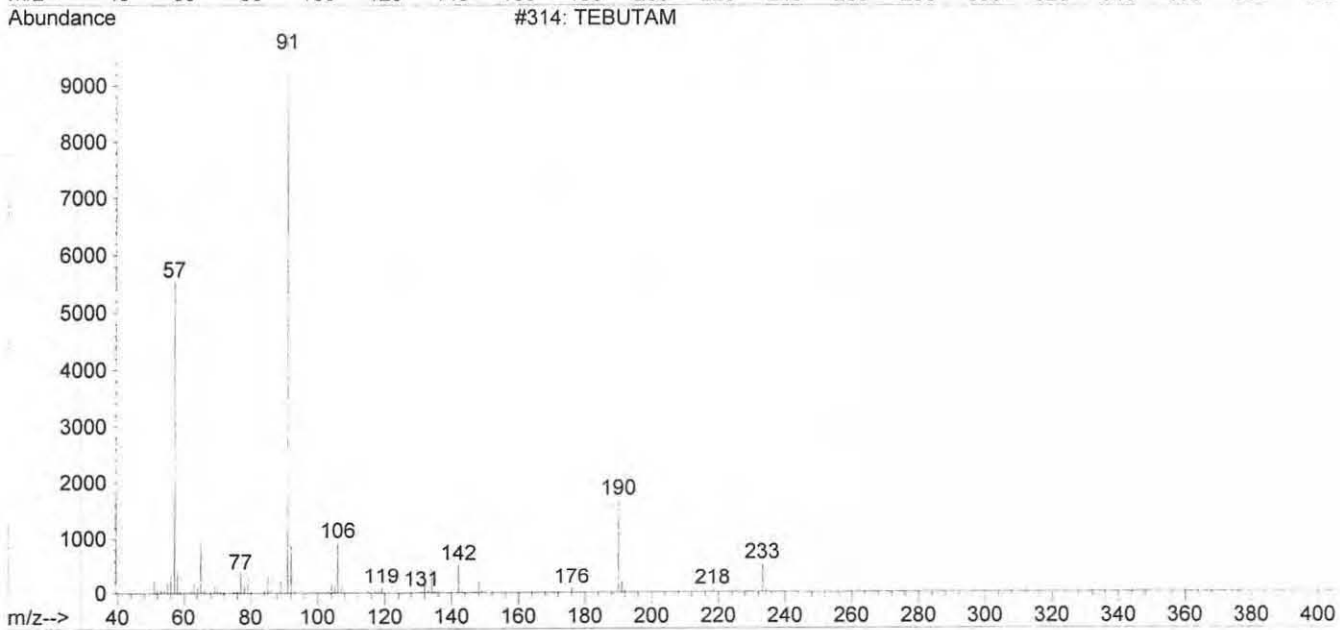
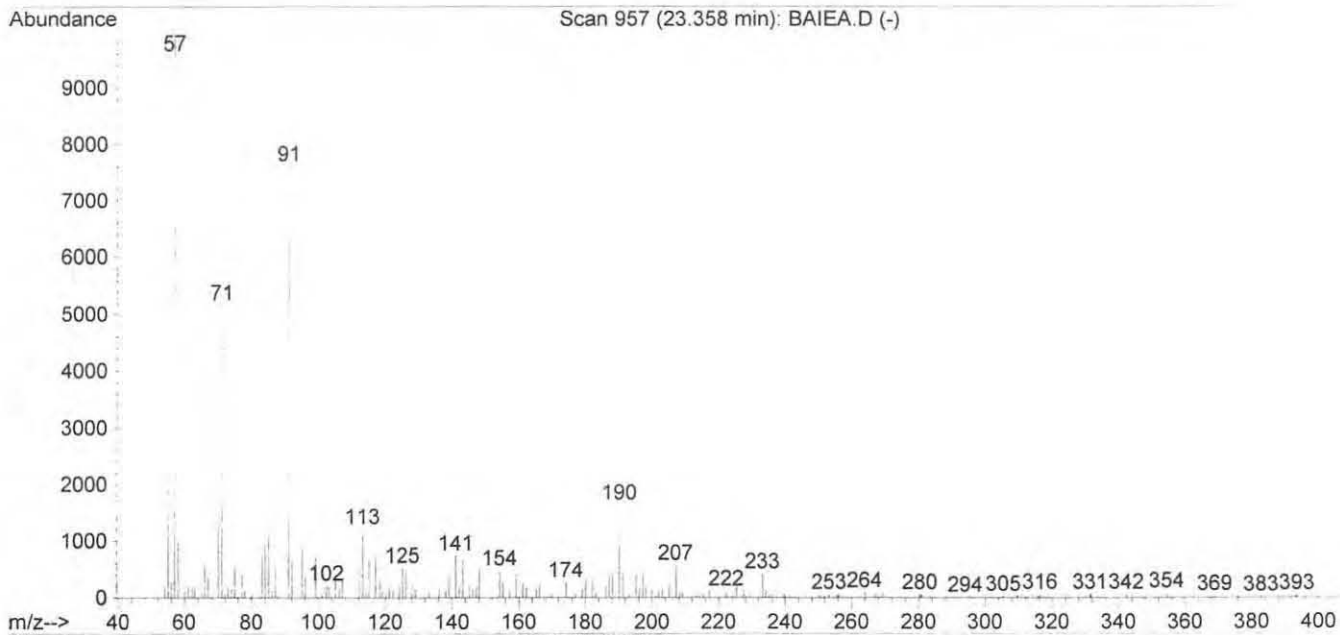
Library Searched : C:\DATABASE\NBS75K.L  
Quality : 64  
ID : Phosphoric acid tributyl ester



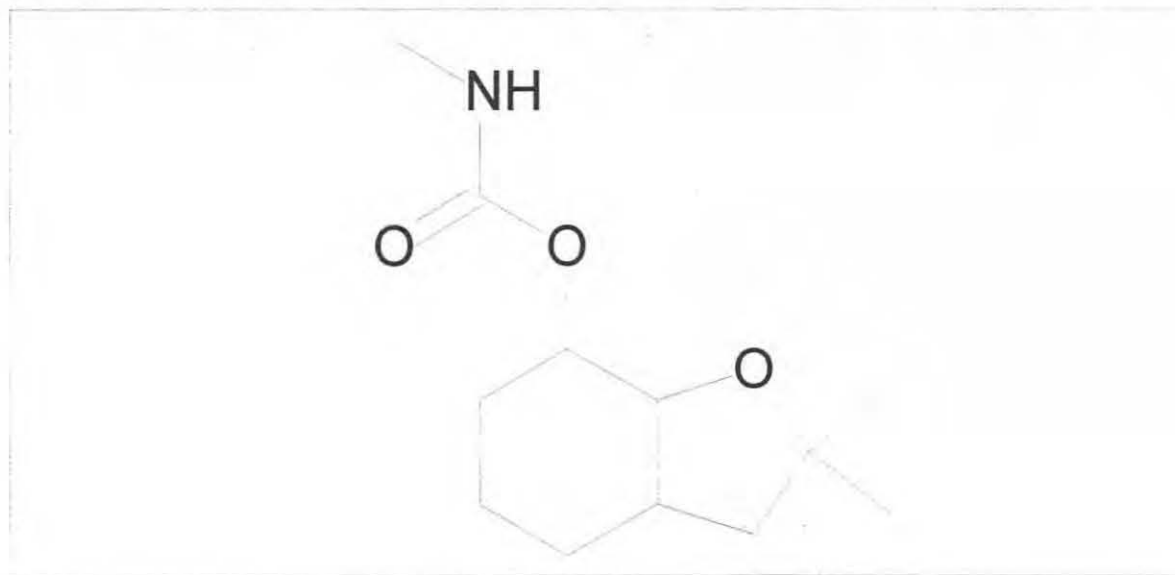
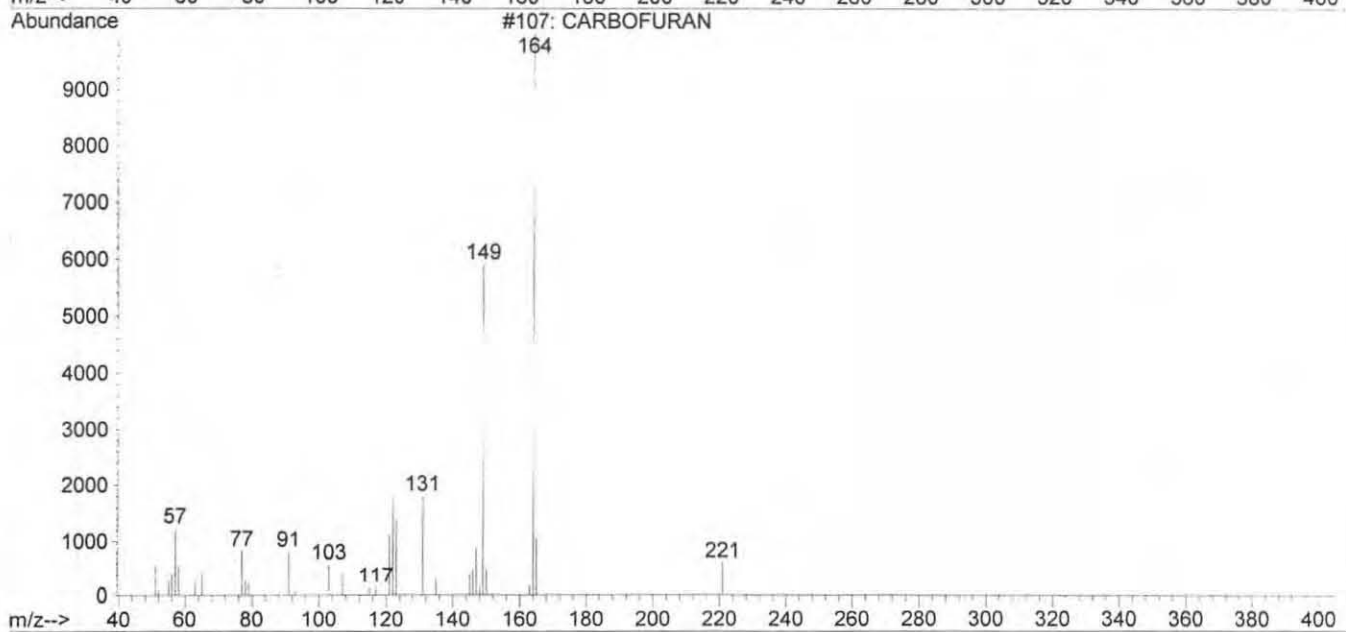
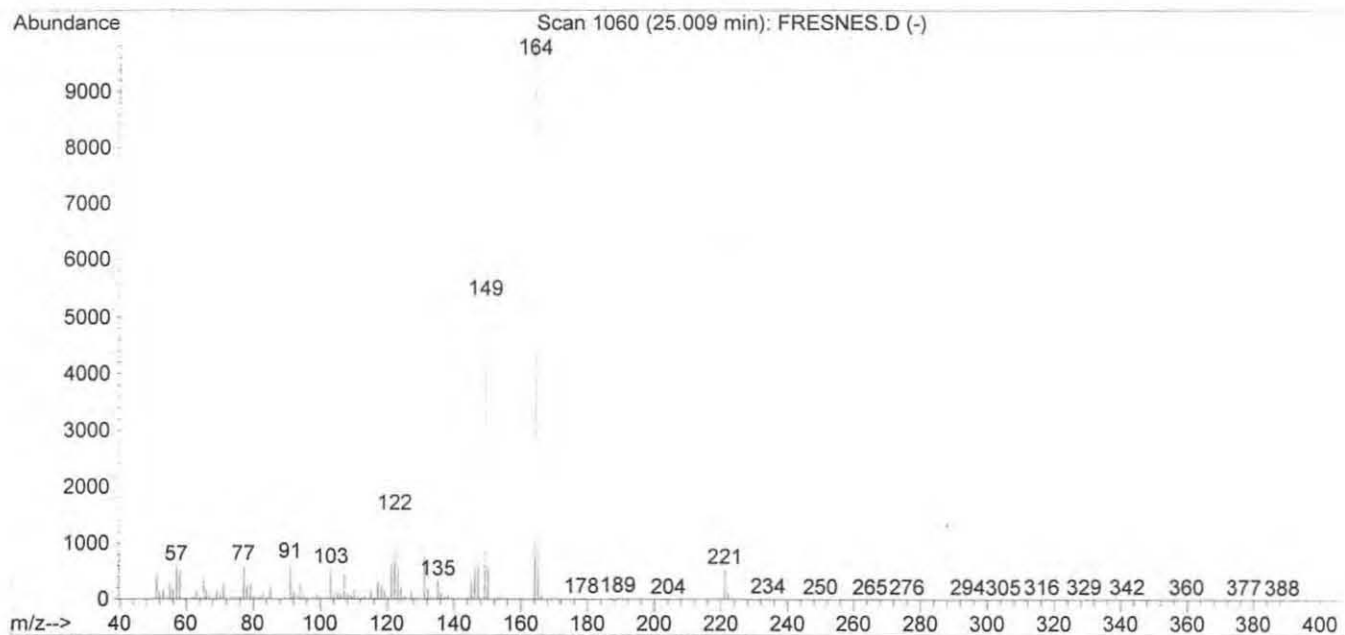
Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L  
Quality : 86  
ID : DESETHYLATRAZINE  
IUPAC NAME:  
TRADE NAMES:



Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L  
Quality : 12  
ID : TEBUTAM  
IUPAC NAME: N-benzyl-N-isopropylpivalamide  
TRADE NAMES: COMODOR



Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L  
Quality : 96  
ID : CARBOFURAN  
IUPAC NAME : 2,3-dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7-yl methylcarbamate

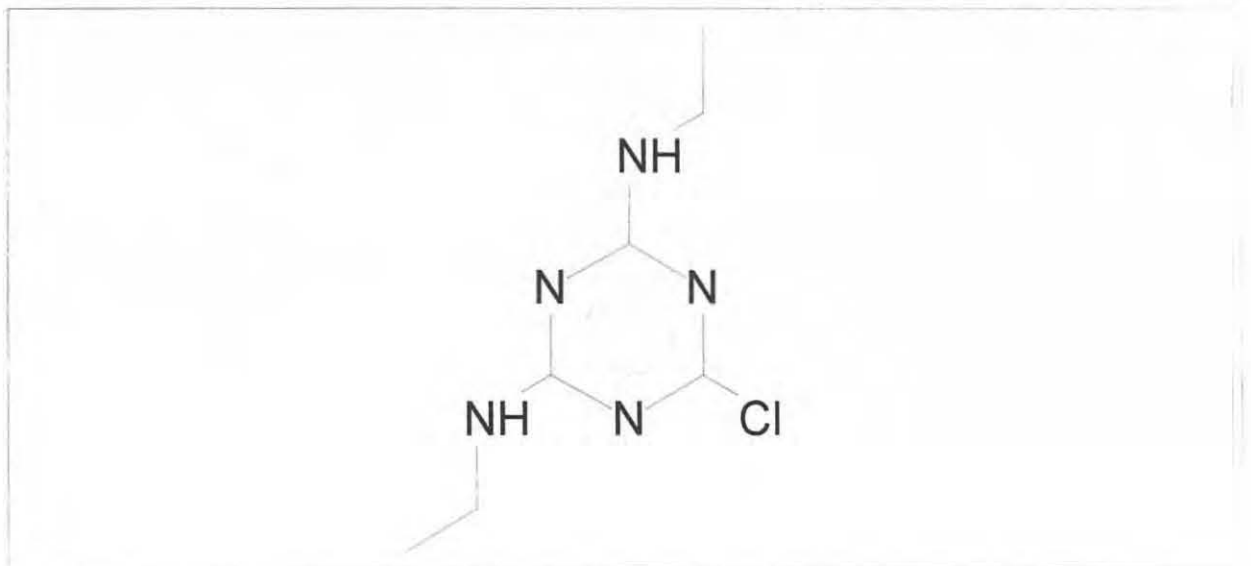
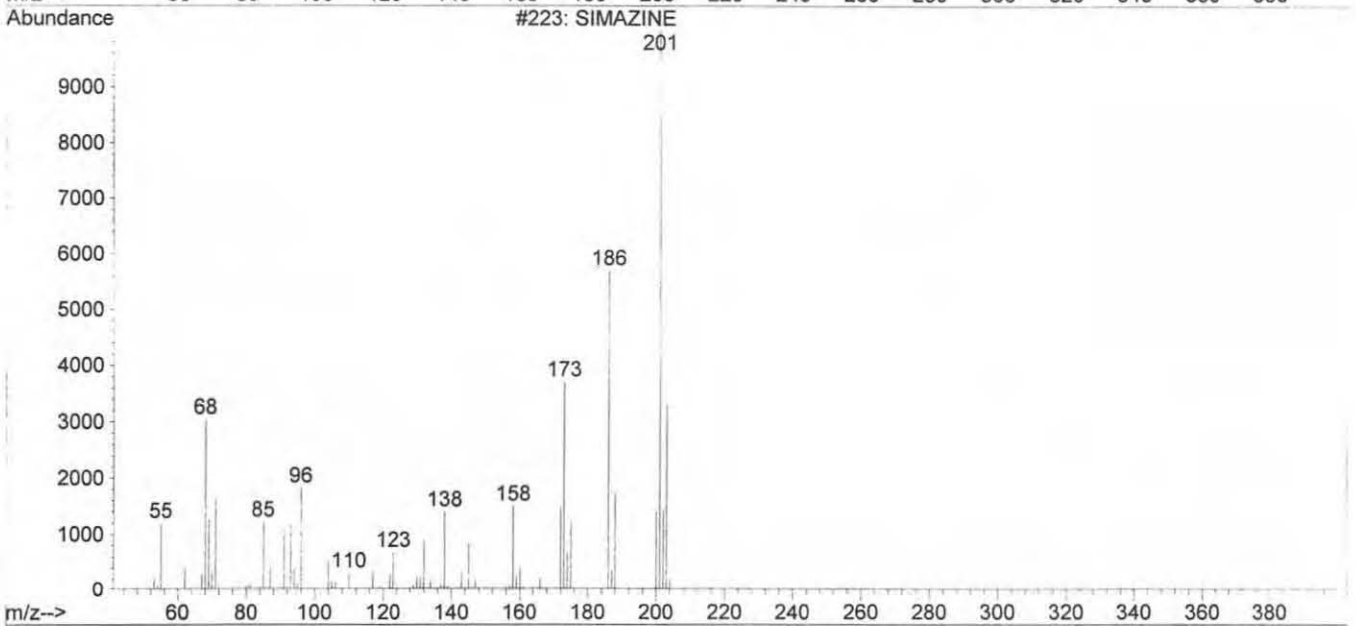
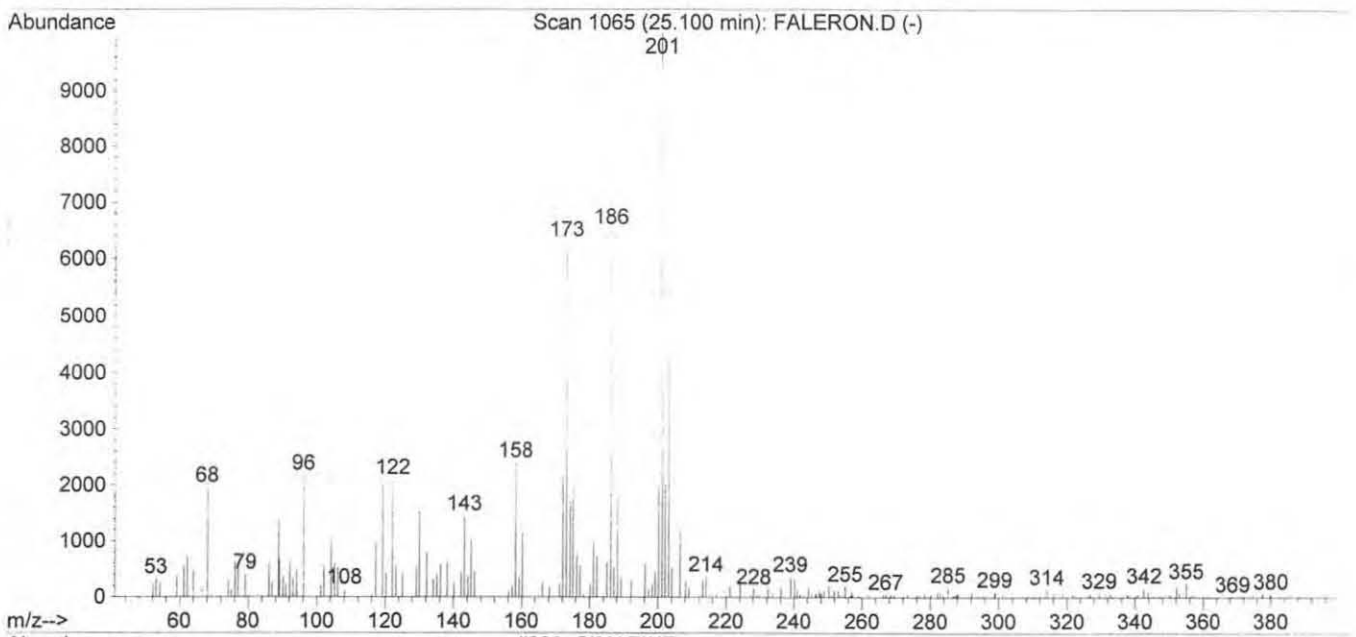


Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L

Quality : 93

ID : SIMAZINE

IUPAC NAME: 2-chloro-4,6-bis(ethylamino)-1,3,5-triazine

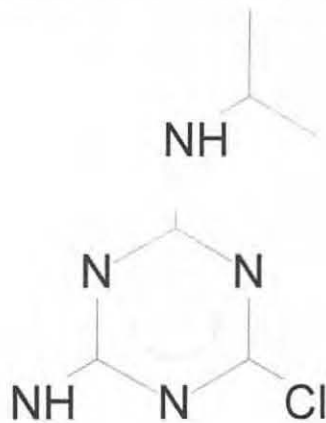
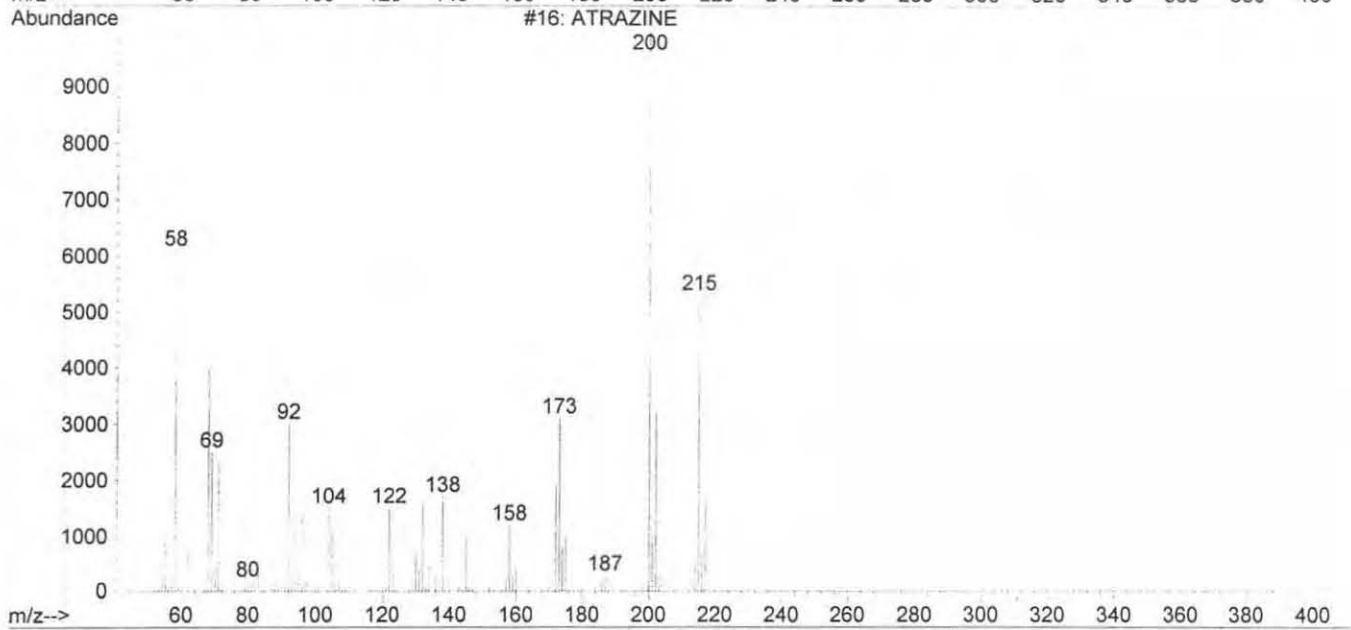
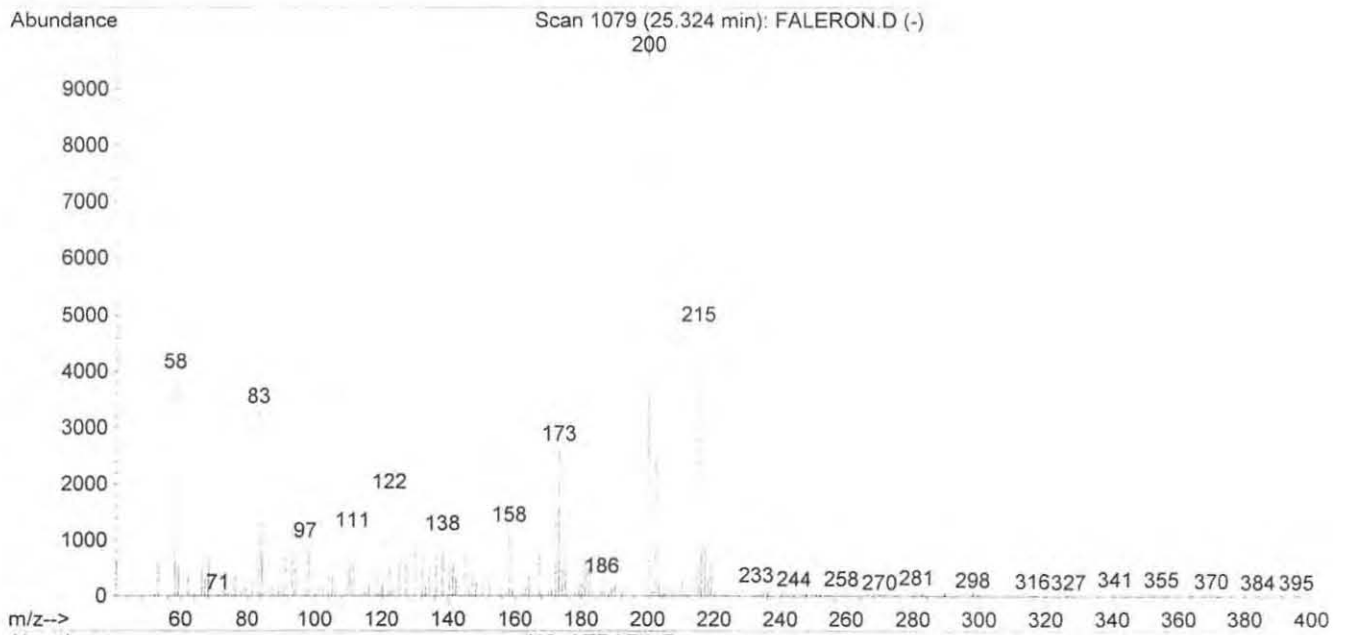


Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L

Quality : 93

ID : ATRAZINE

IUPAC NAME : 2-chloro-4-ethylamino-6-isopropyl-  
amino-1,3,5-triazine

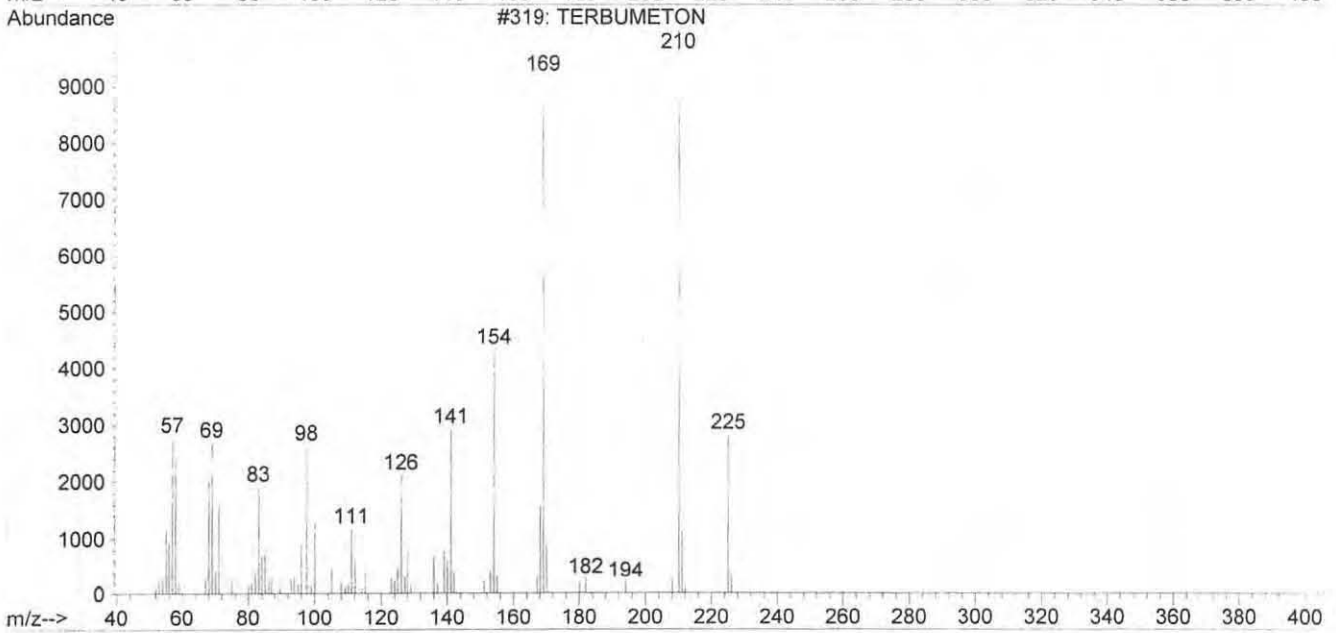
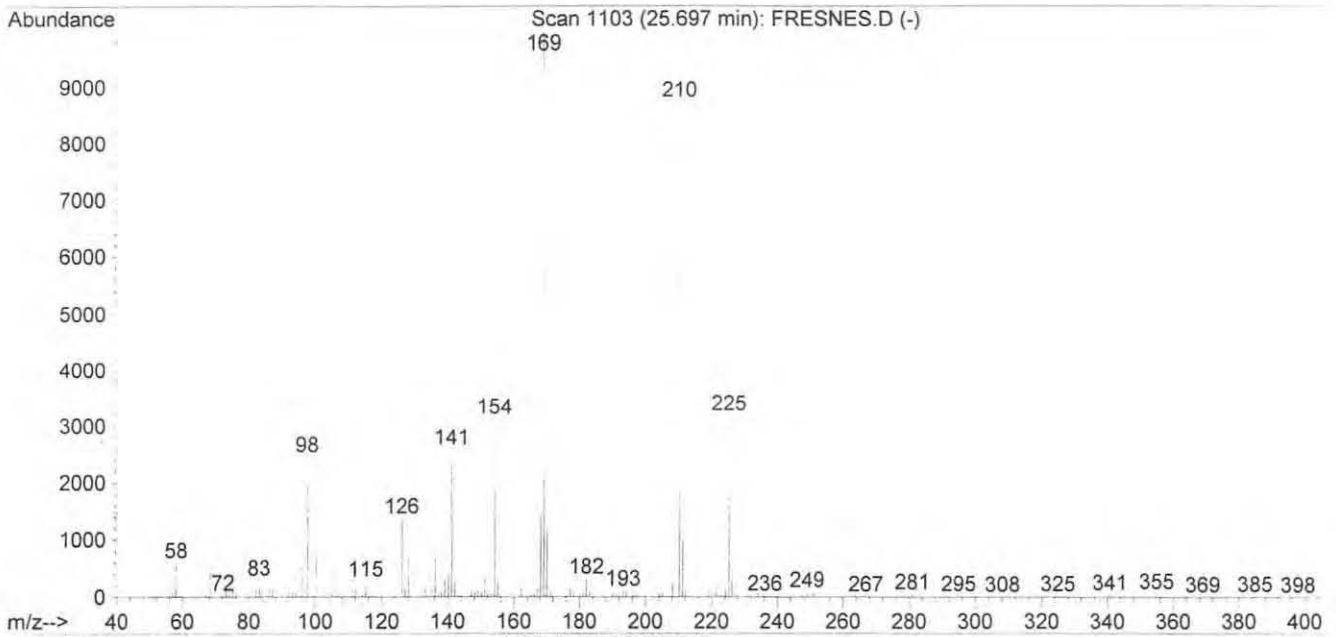


Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L

Quality : 78

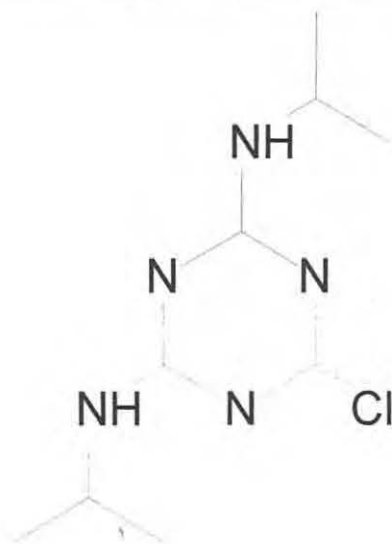
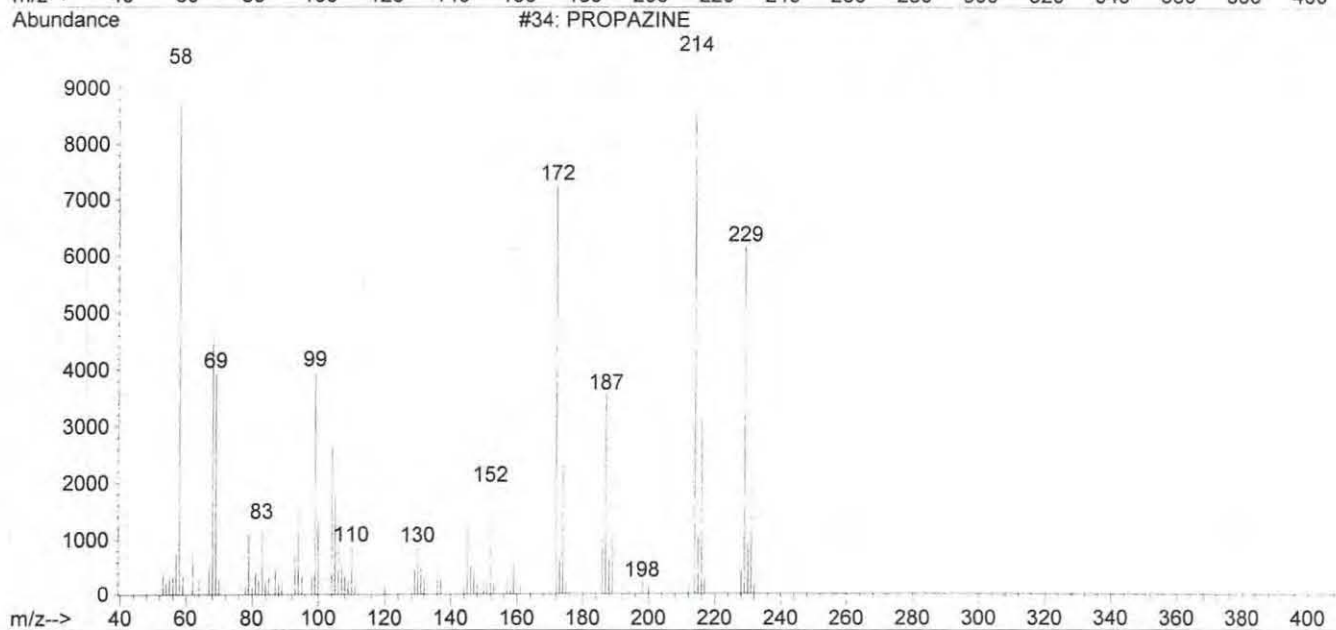
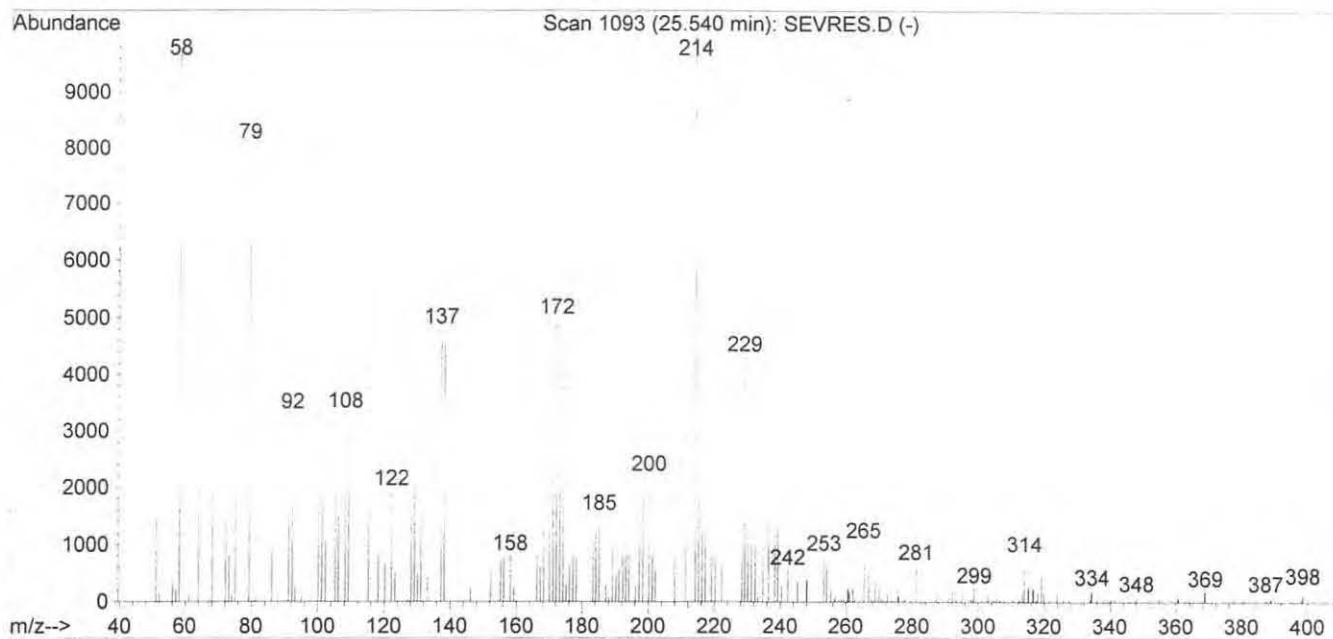
ID : TERBUMETON

IUPAC NAME: N<sup>2</sup>-tert-butyl-N<sup>4</sup>-ethyl-6-methoxy-1,3,5-triazine-2,4-diamine





Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L  
Quality : 38  
ID : PROPAZINE  
IUPAC NAME : 2-chloro-4,6-bis(isopropylamino)-1,3,5-triazine

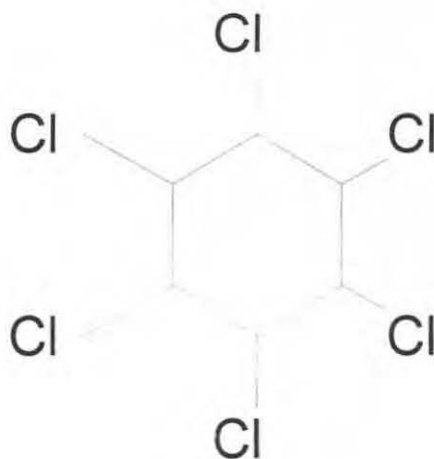
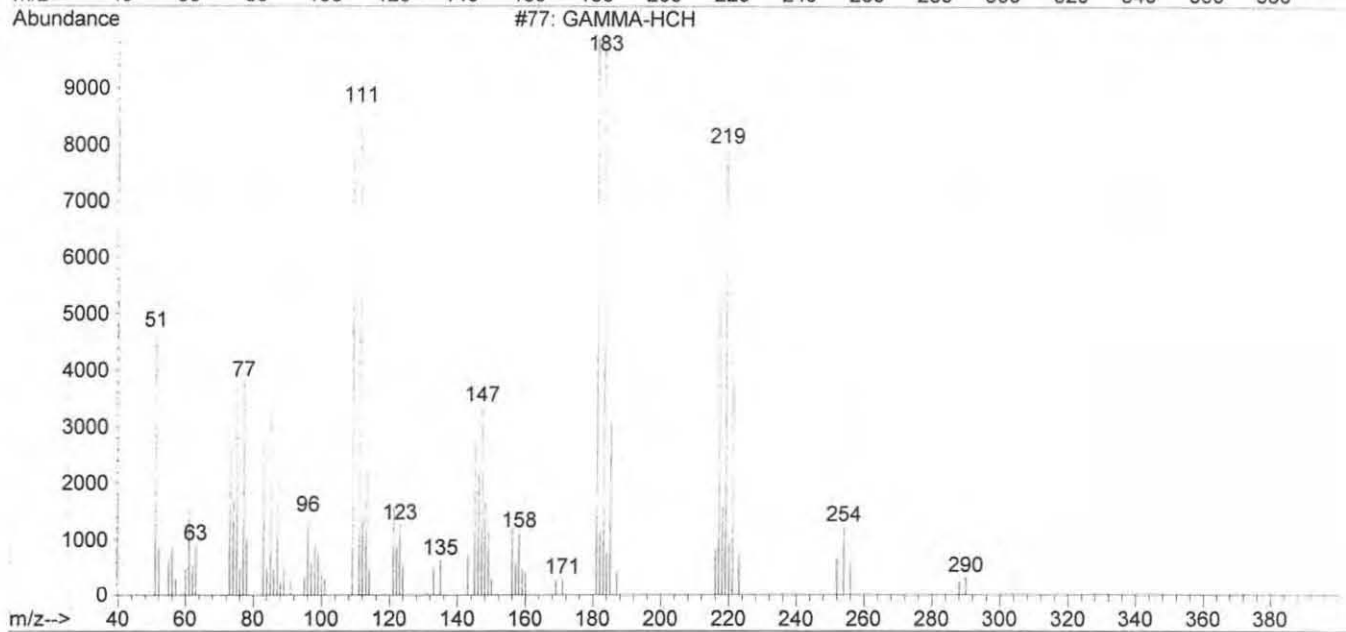
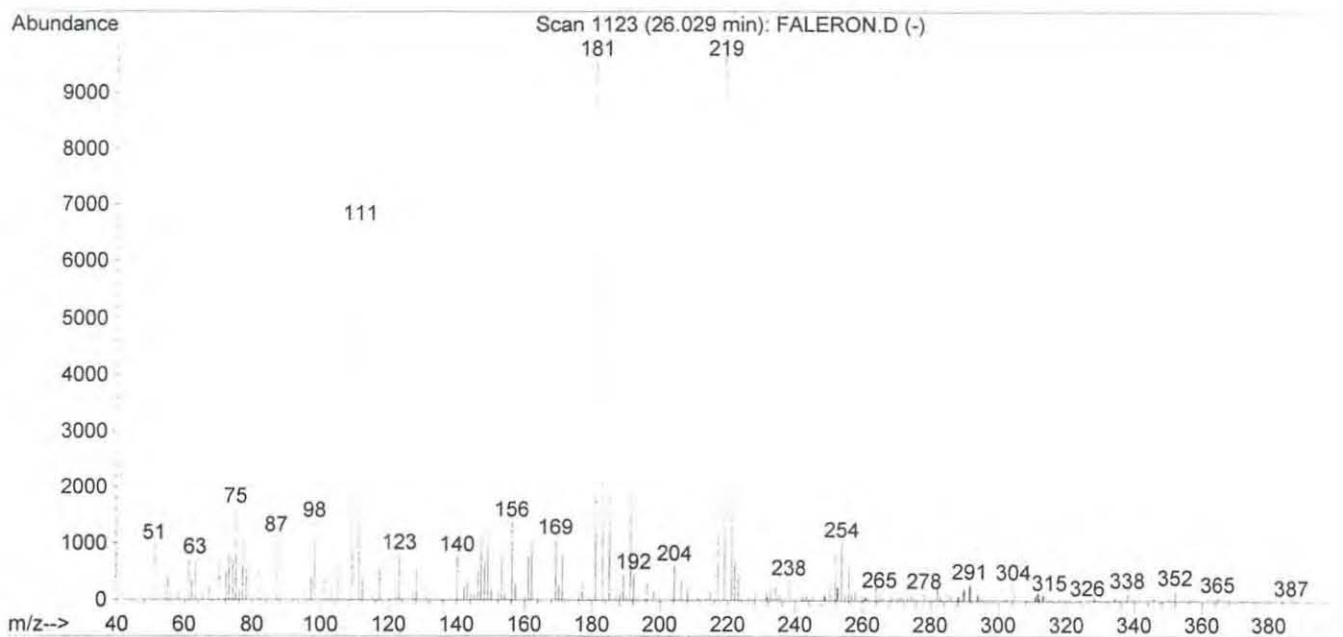


Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L

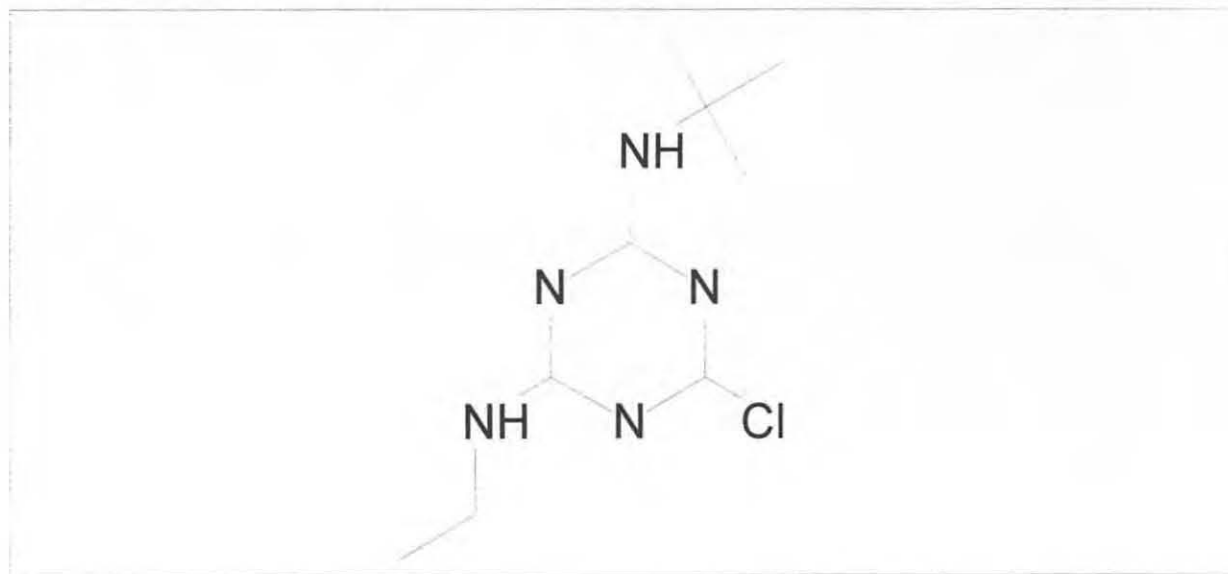
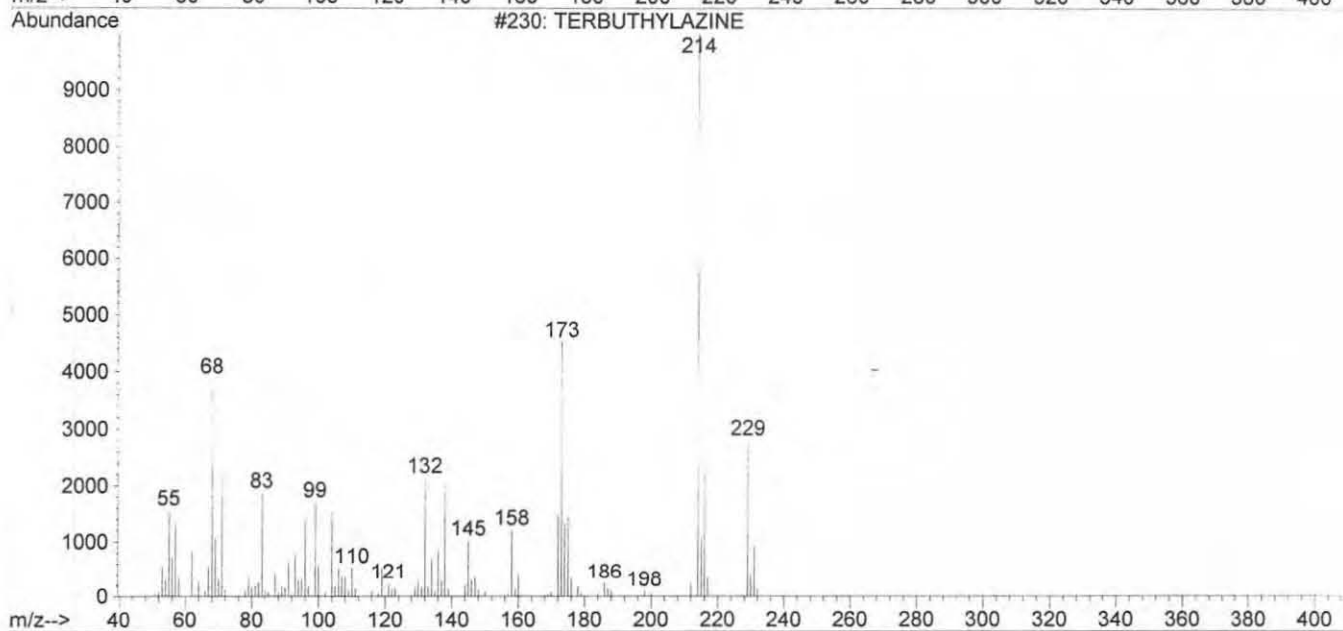
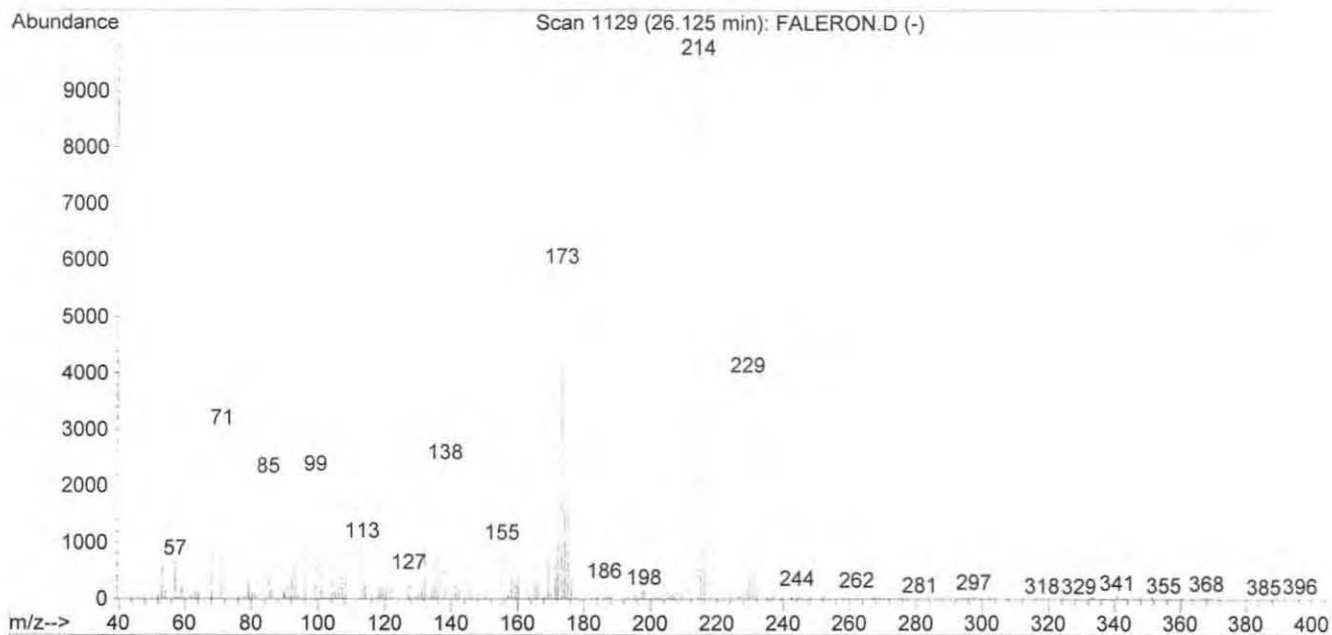
Quality : 81

ID : GAMMA-HCH

IUPAC NAME : 1 alpha, 2 alpha, 3 beta, 4 alpha,  
5 alpha, 6 beta-hexachlorocycl



Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L  
Quality : 94  
ID : TERBUTHYLAZINE  
C.A. NAME: 2-tert-butylamino-4-chloro-6-ethyl-  
amino-1,3,5-triazine

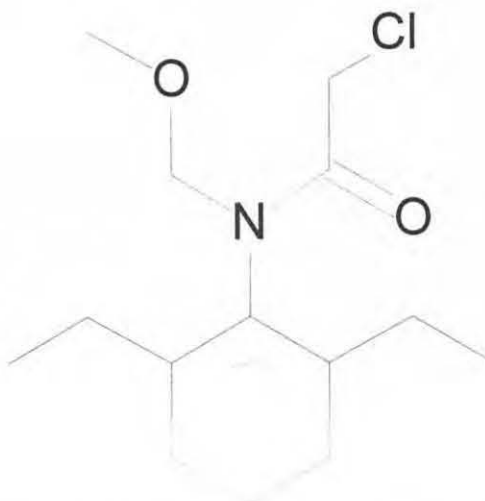
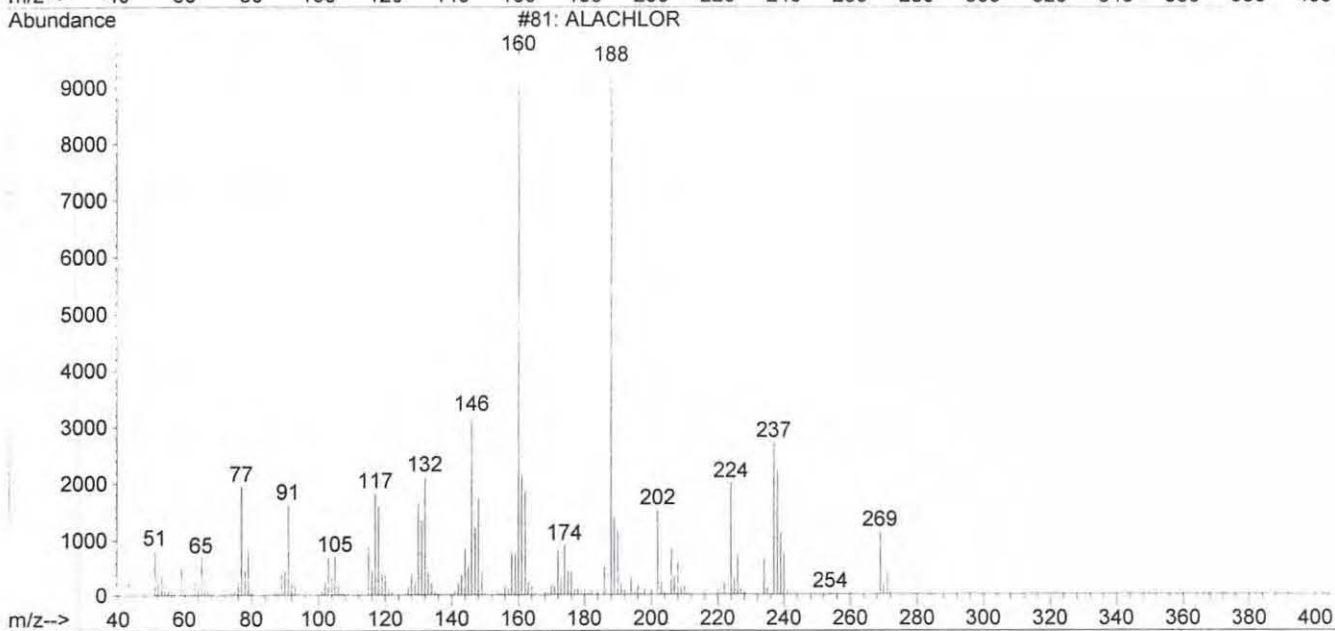
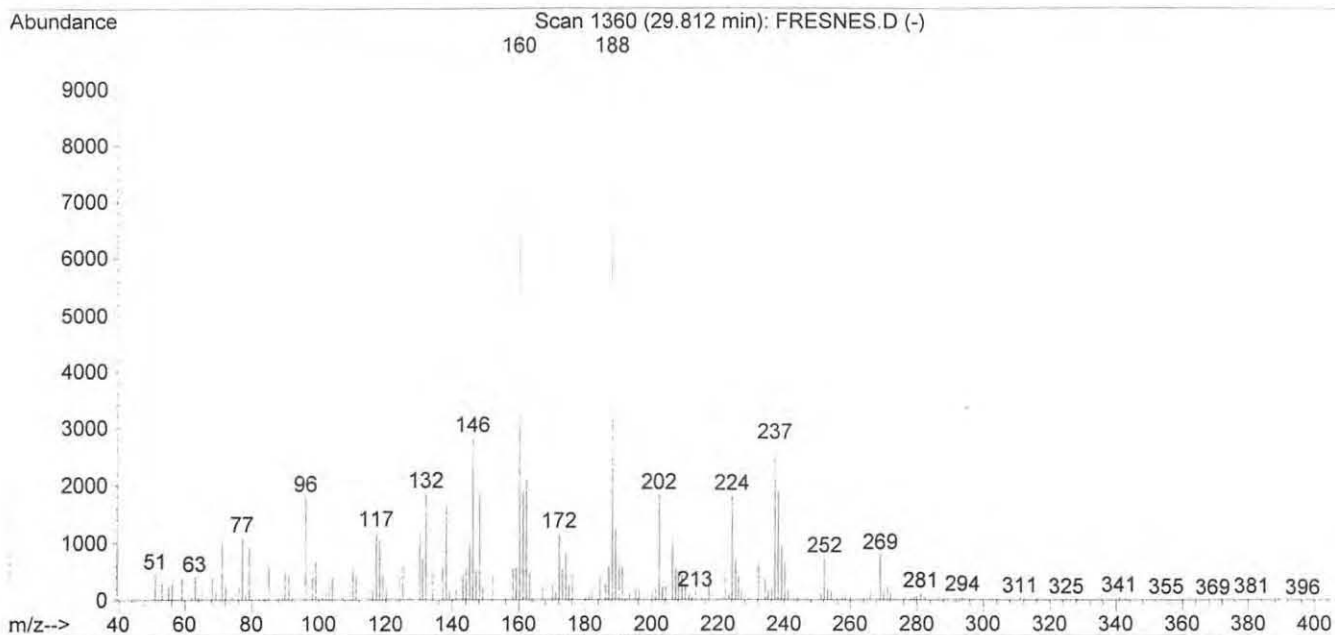


Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L

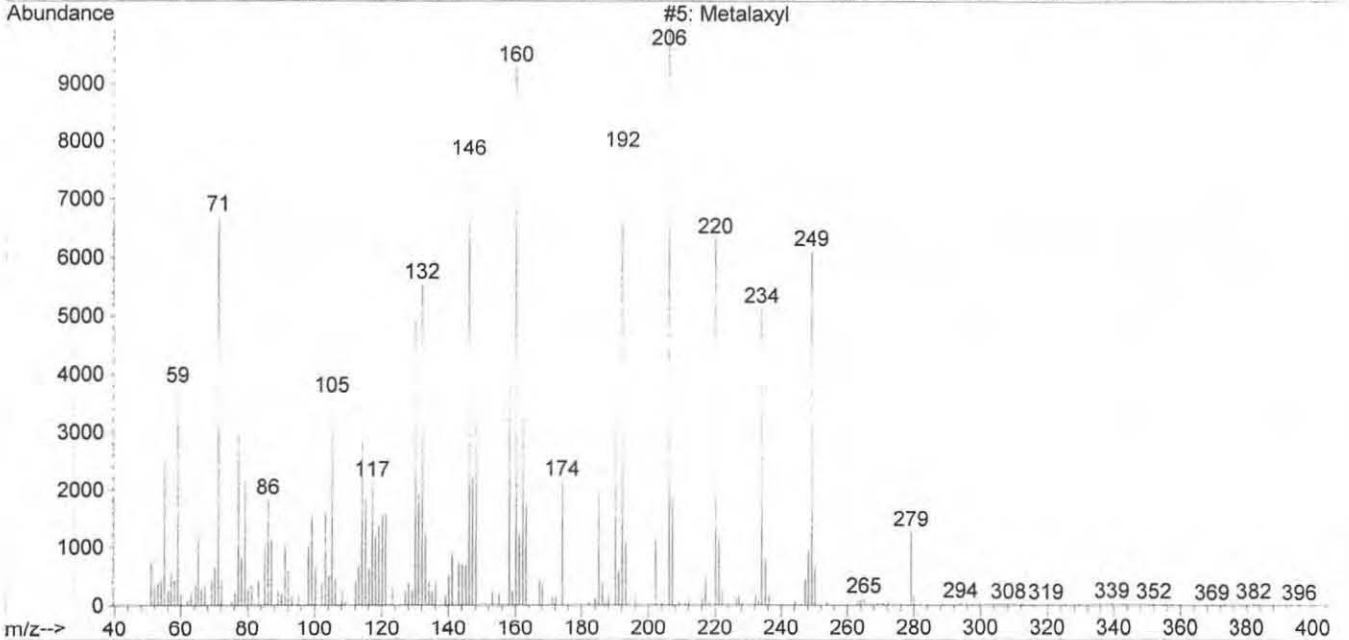
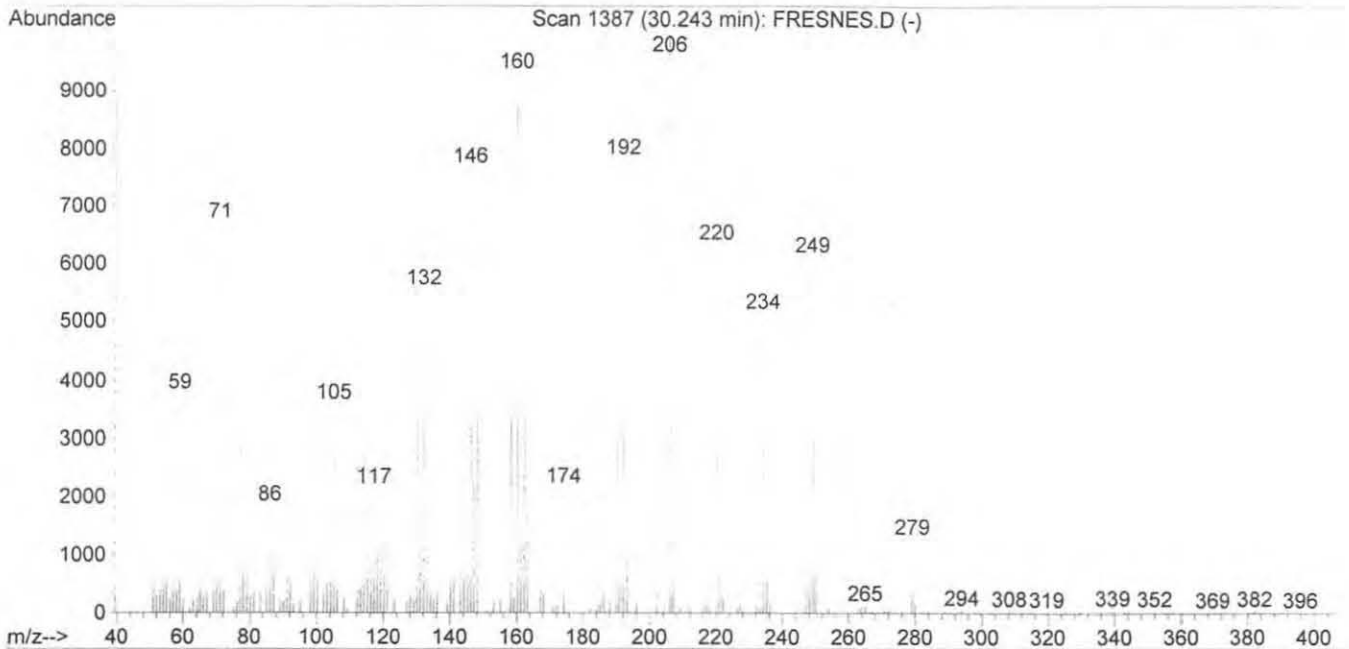
Quality : 93

ID : ALACHLOR

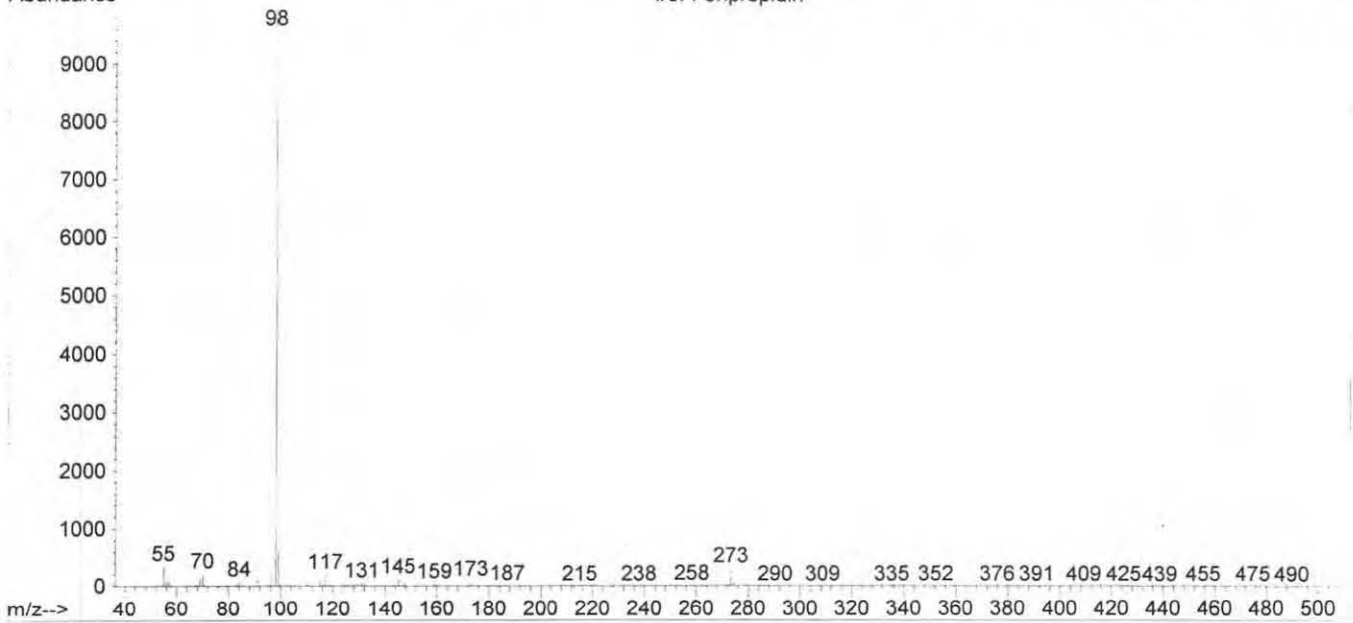
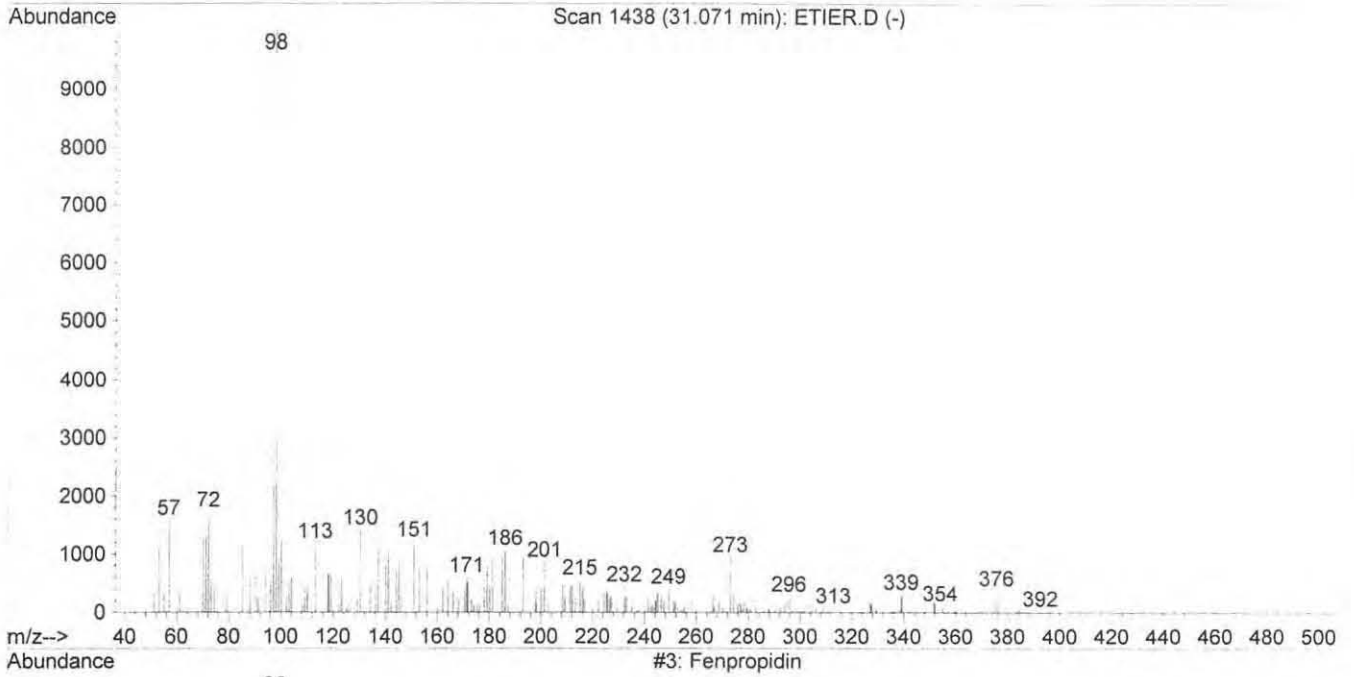
IUPAC NAME : 2-chloro-2',6'-diethyl-N-methoxy-methylacetanilide



Library Searched : C:\DATABASE\IFREMER.L  
Quality : 99  
ID : Metalaxyl



Library Searched : C:\DATABASE\IFREMER.L  
Quality : 9  
ID : Fenpropidin

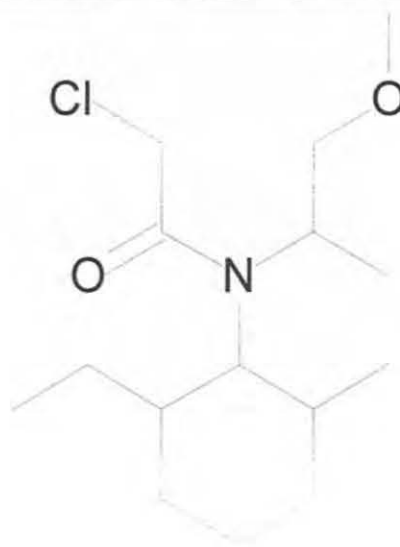
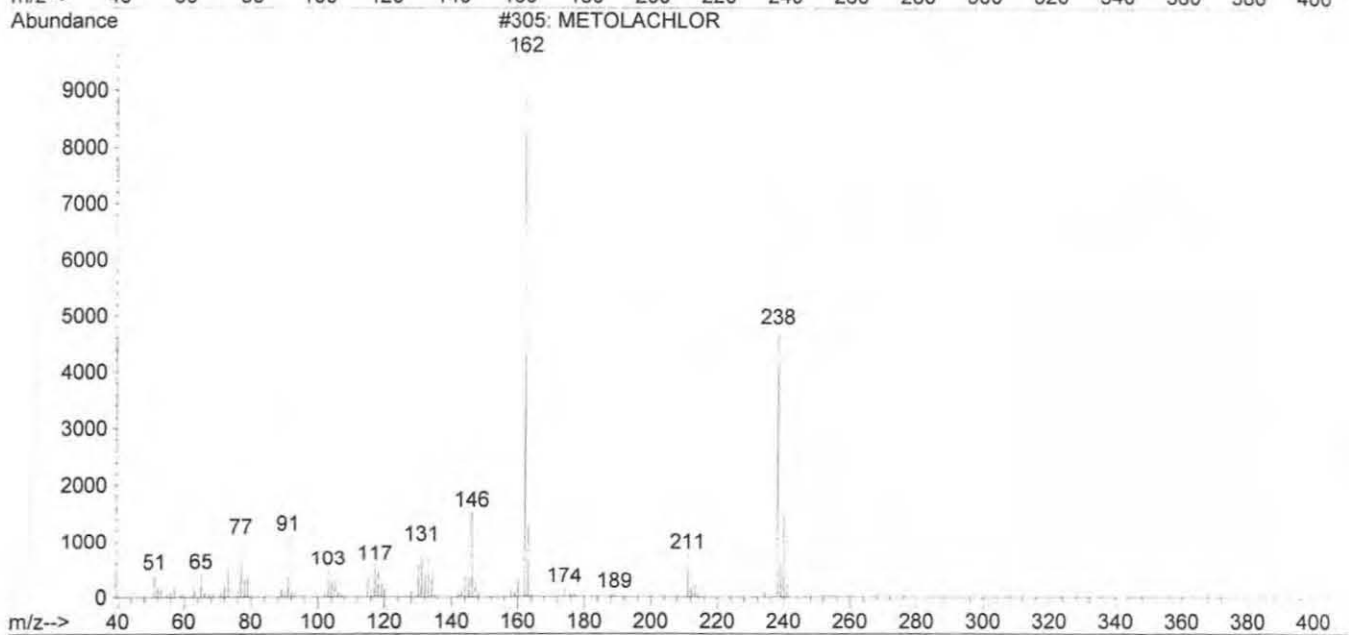
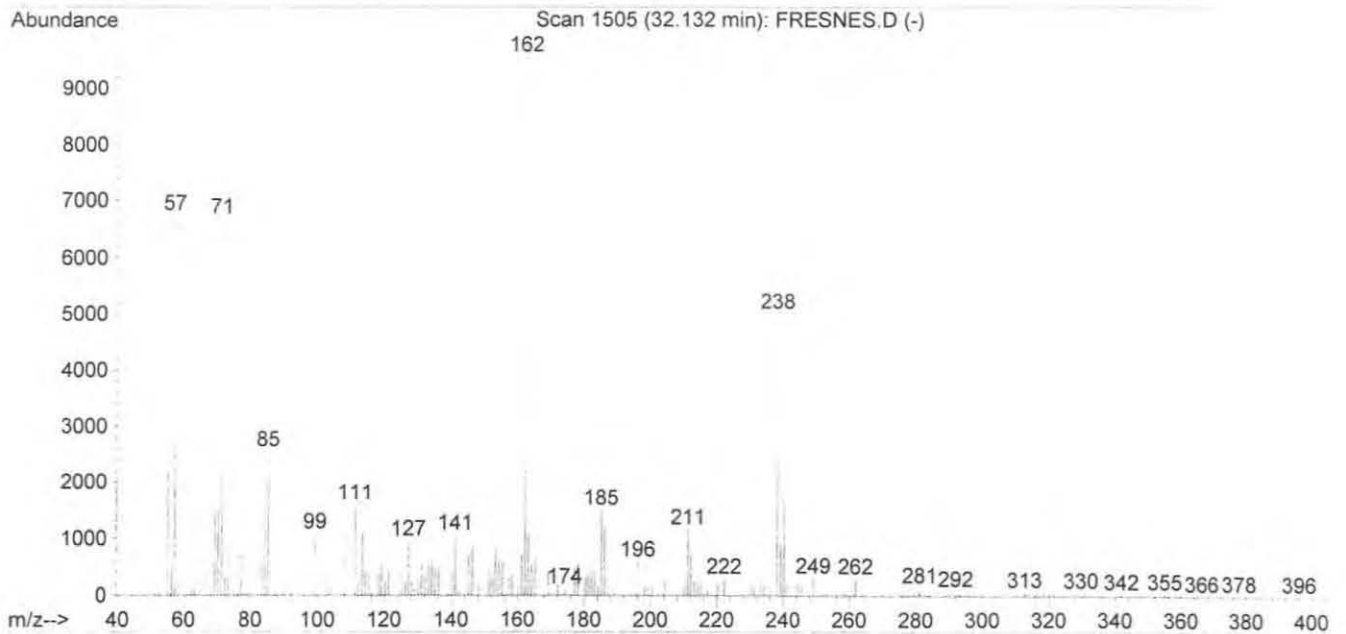


Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L

Quality : 50

ID : METOLACHLOR

IUPAC NAME: 2-chloro-6'-ethyl-N-(2-ethoxy-1-methylethyl)acet-o-toluidide

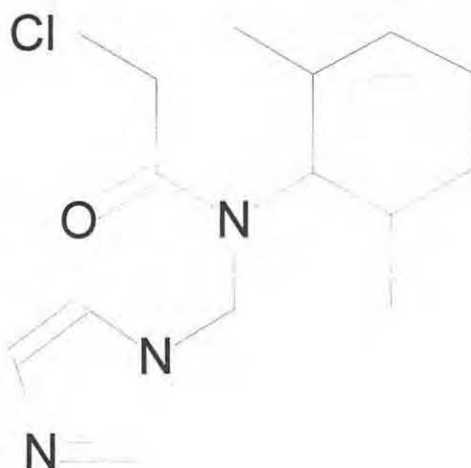
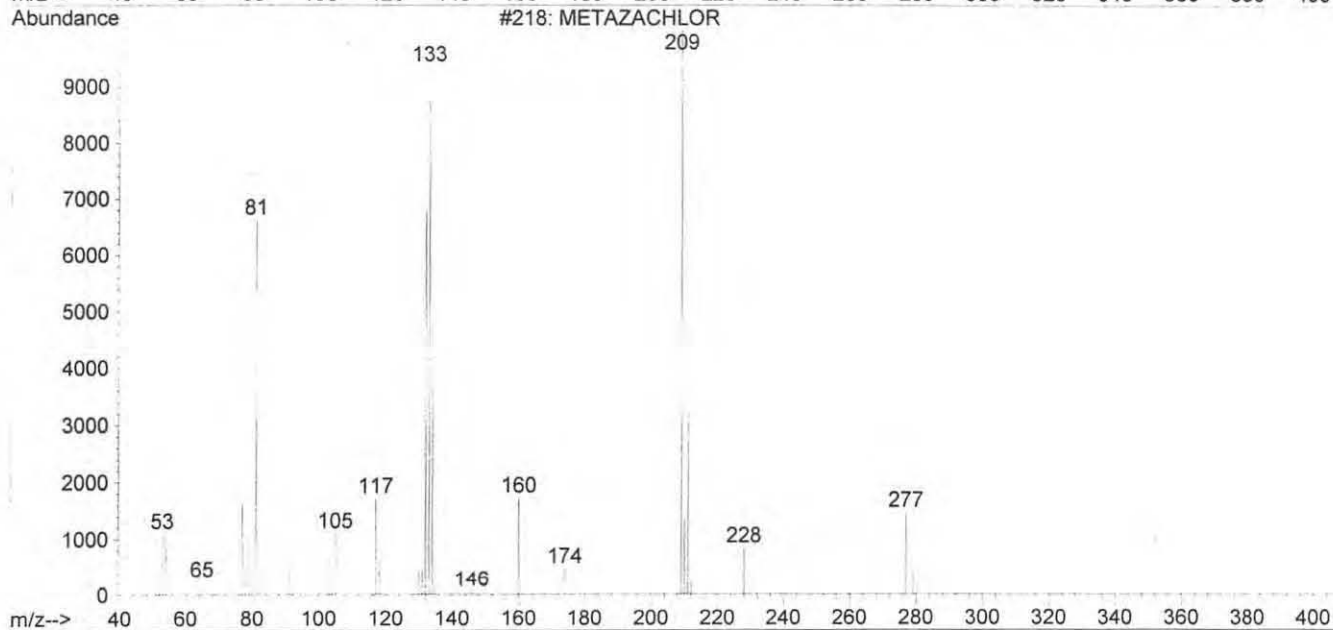
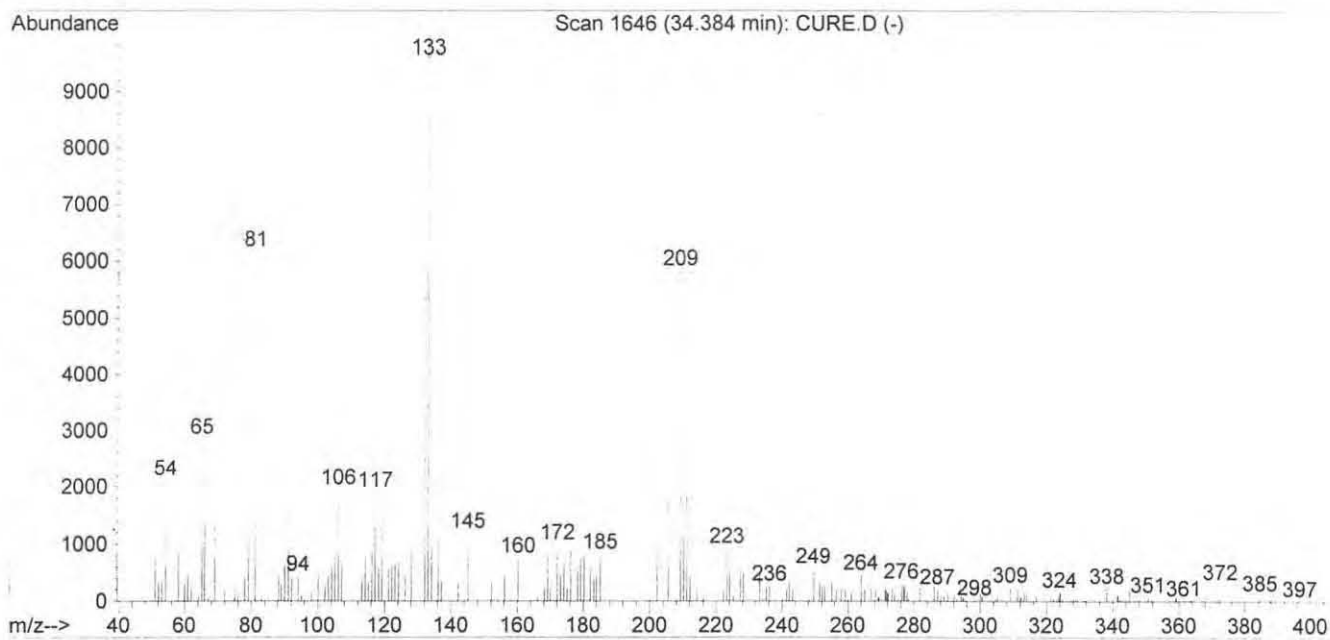


Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L

Quality : 91

ID : METAZACHLOR

IUPAC NAME: 2-chloro-N-(pyrazol-1-ylmethyl)acet-  
2',6'-xylidide





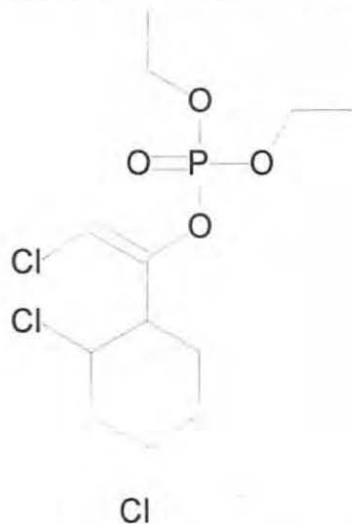
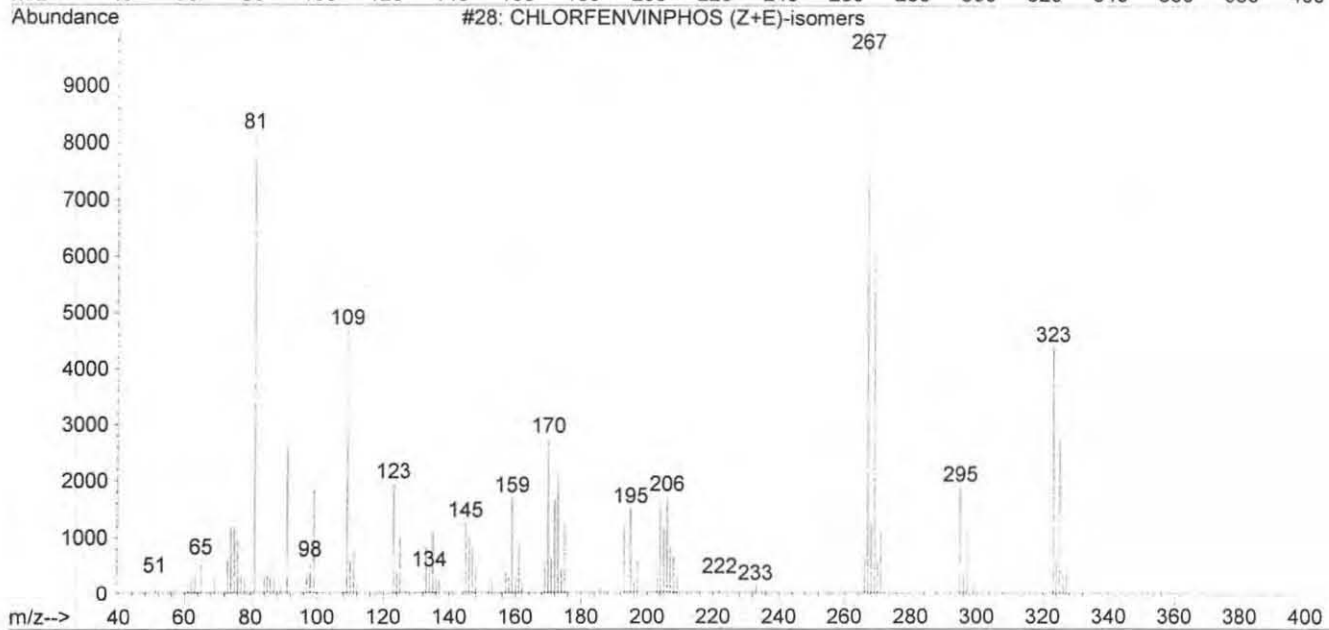
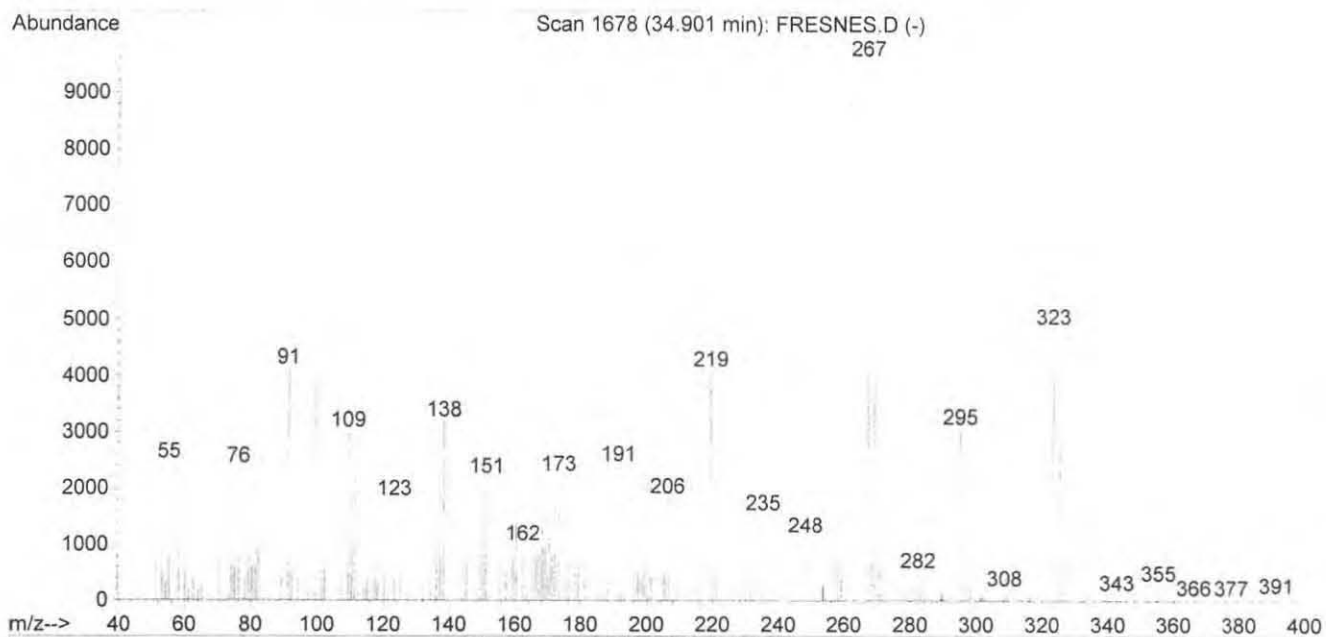
Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L

Quality : 52

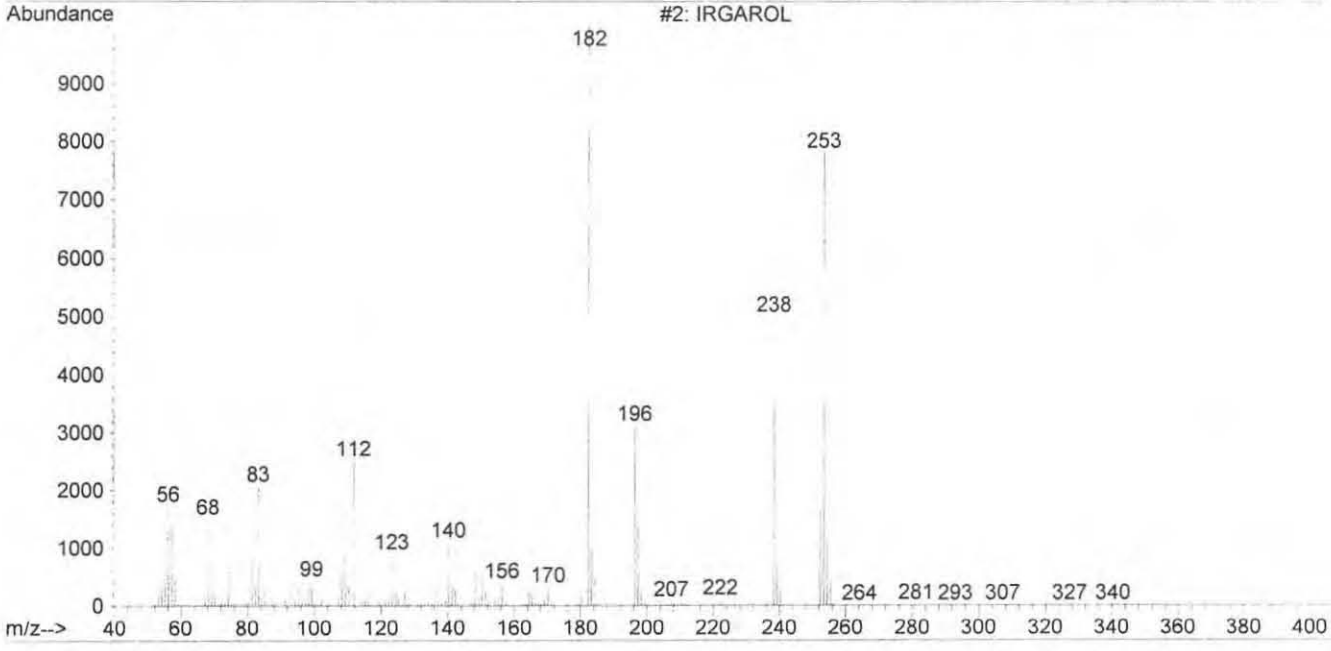
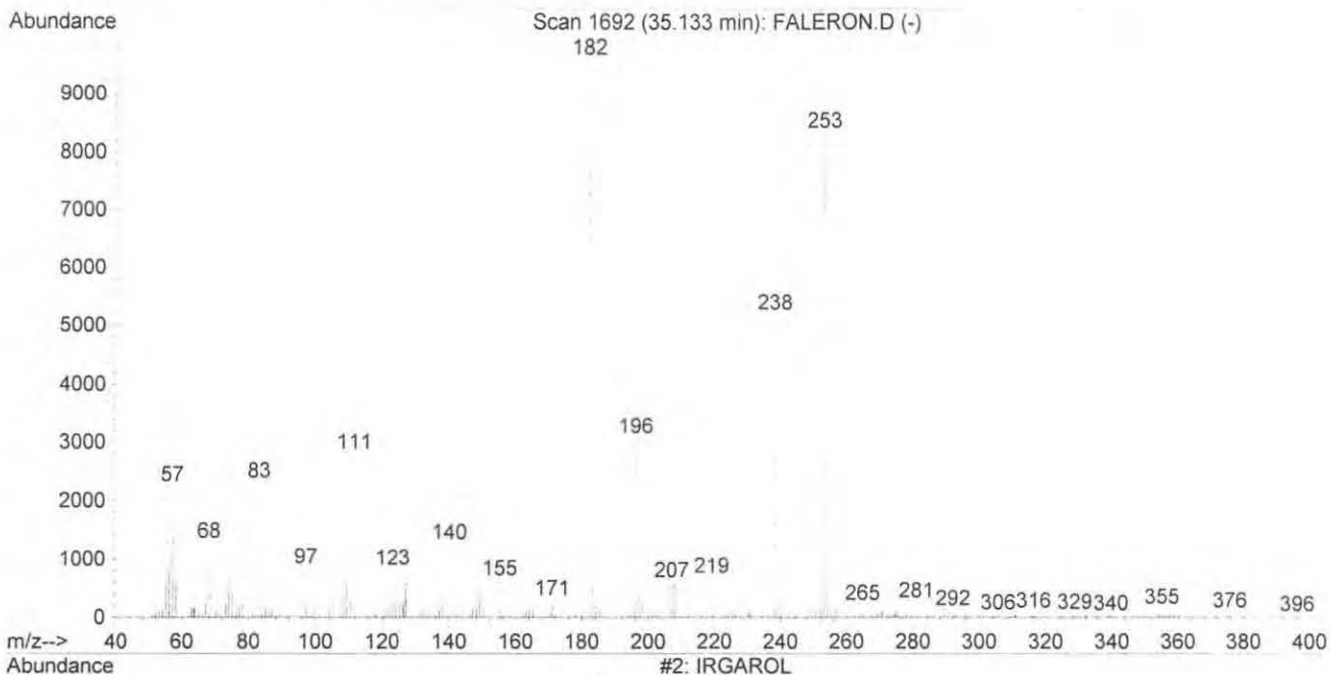
ID

: CHLORFENVINPHOS (Z+E)-isomers

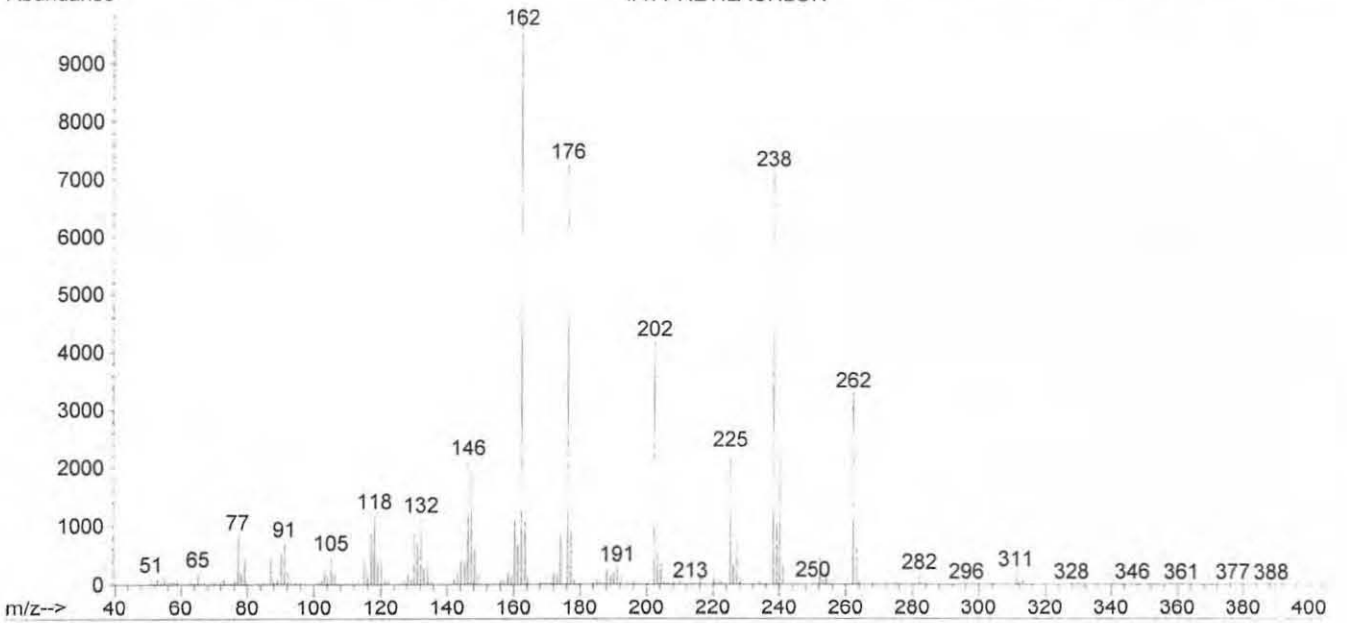
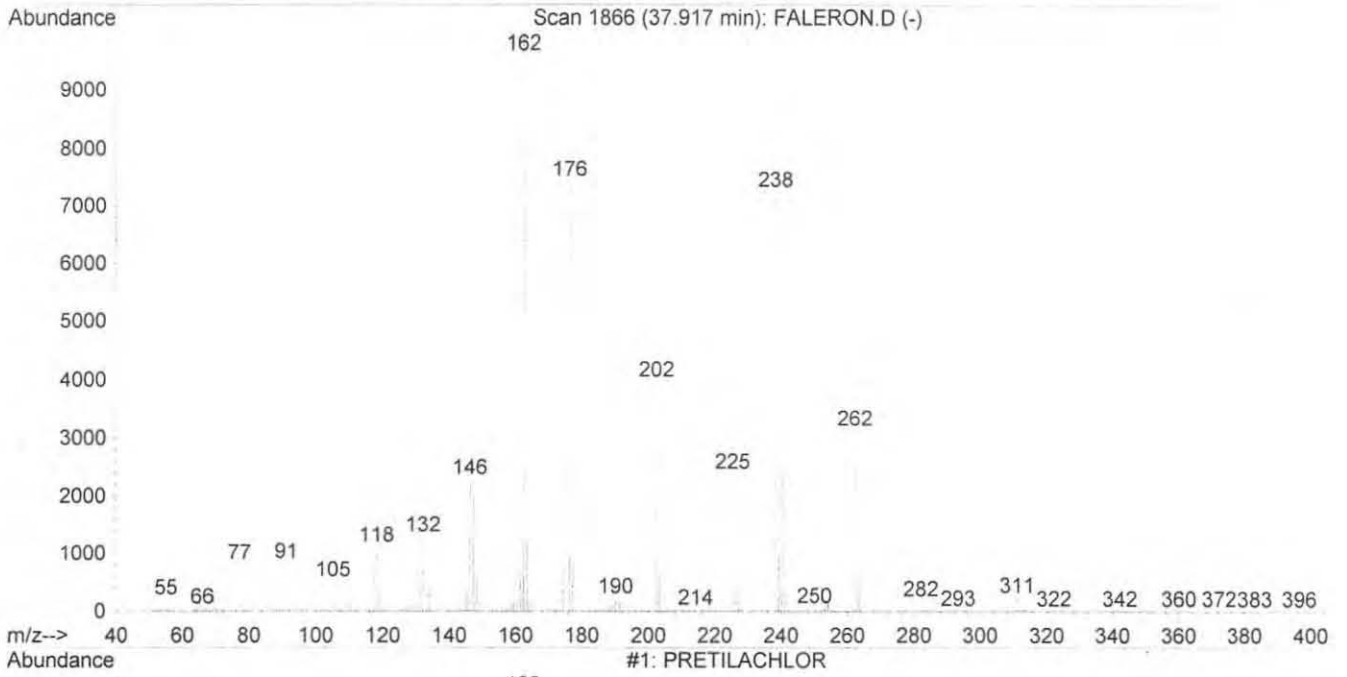
IUPAC NAME : 2-chloro-1-(2,4-dichlorophenyl)vinyl diethyl phosphate



Library Searched : C:\DATABASE\IFREMER.L  
Quality : 90  
ID : IRGAROL



Library Searched : C:\DATABASE\IFREMER.L  
Quality : 99  
ID : PRETILACHLOR

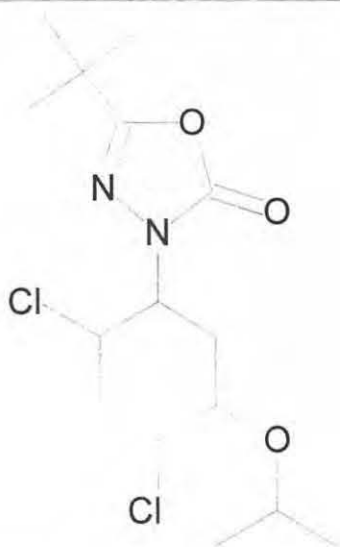
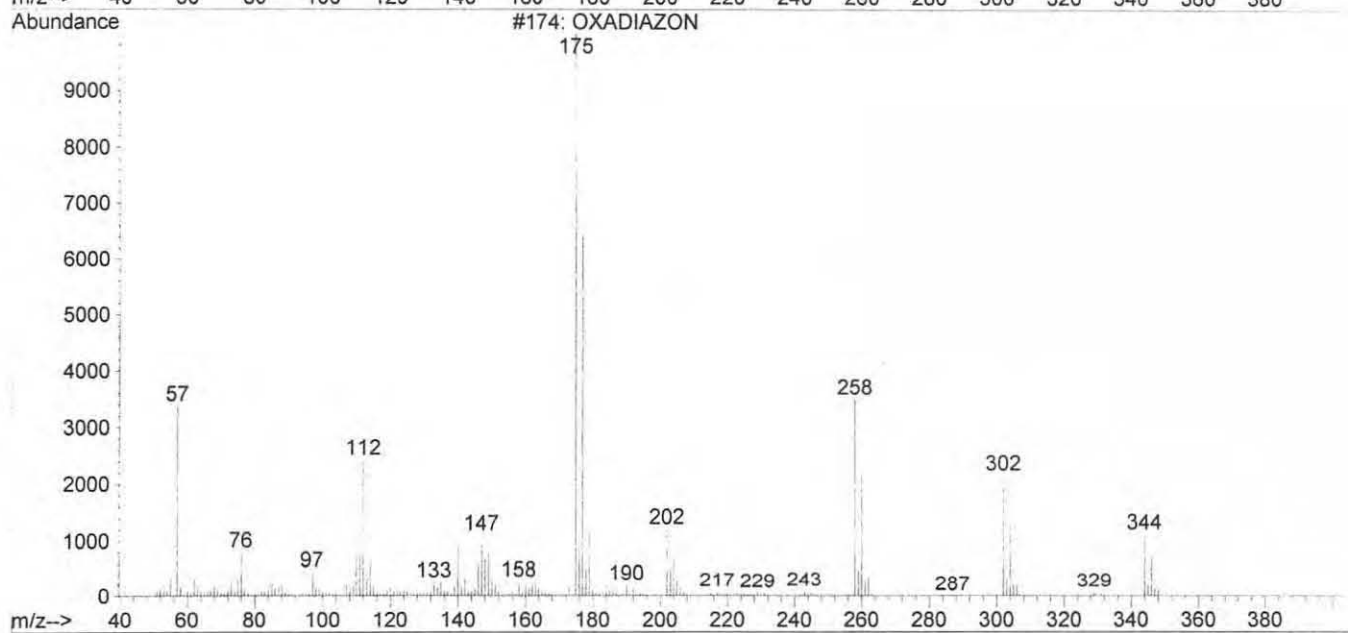
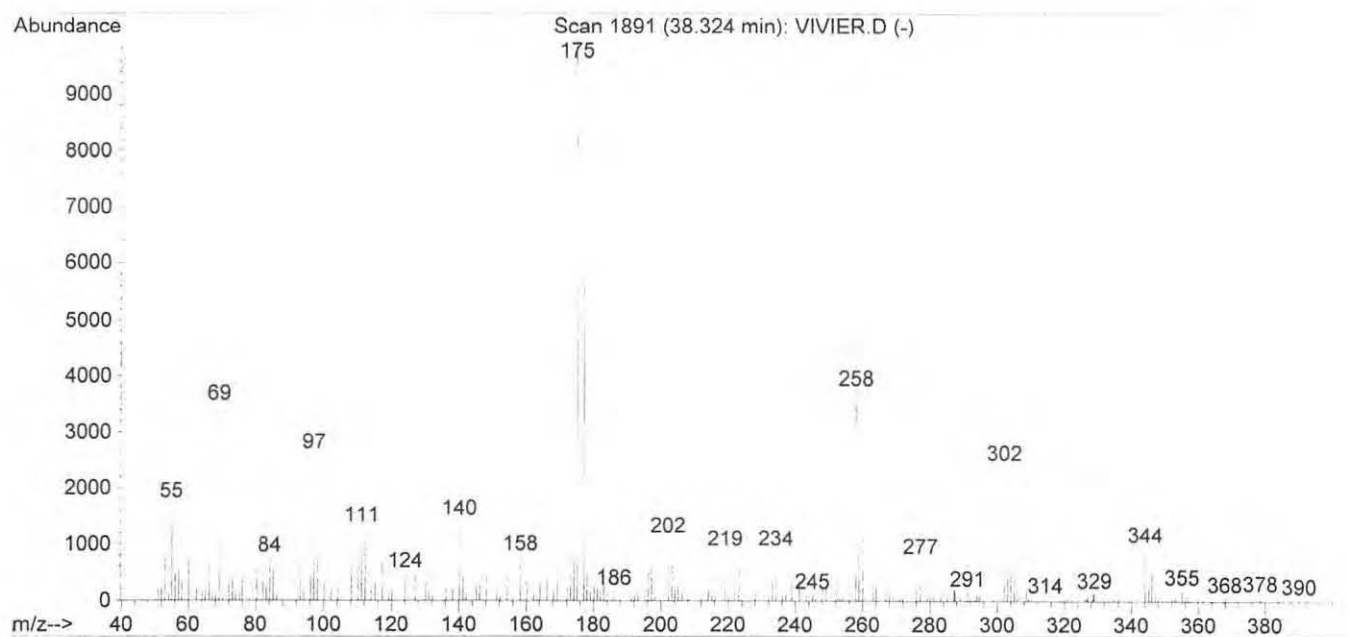


Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L

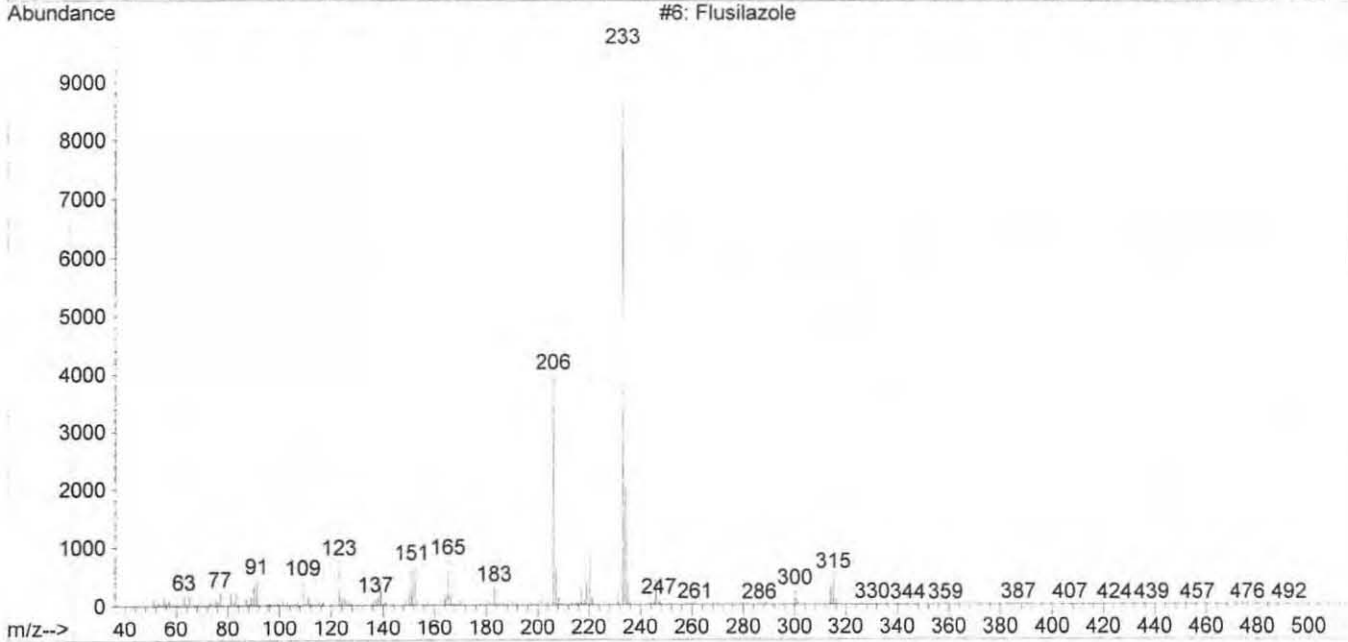
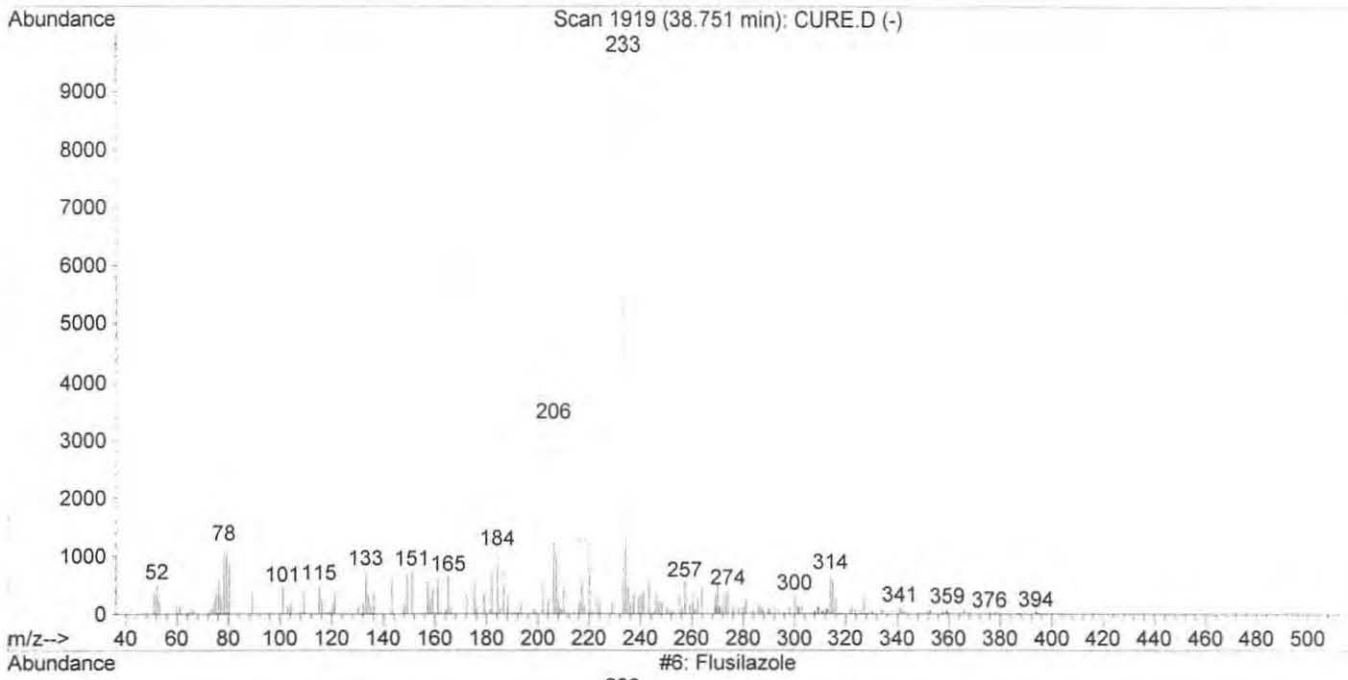
Quality : 93

ID : OXADIAZON

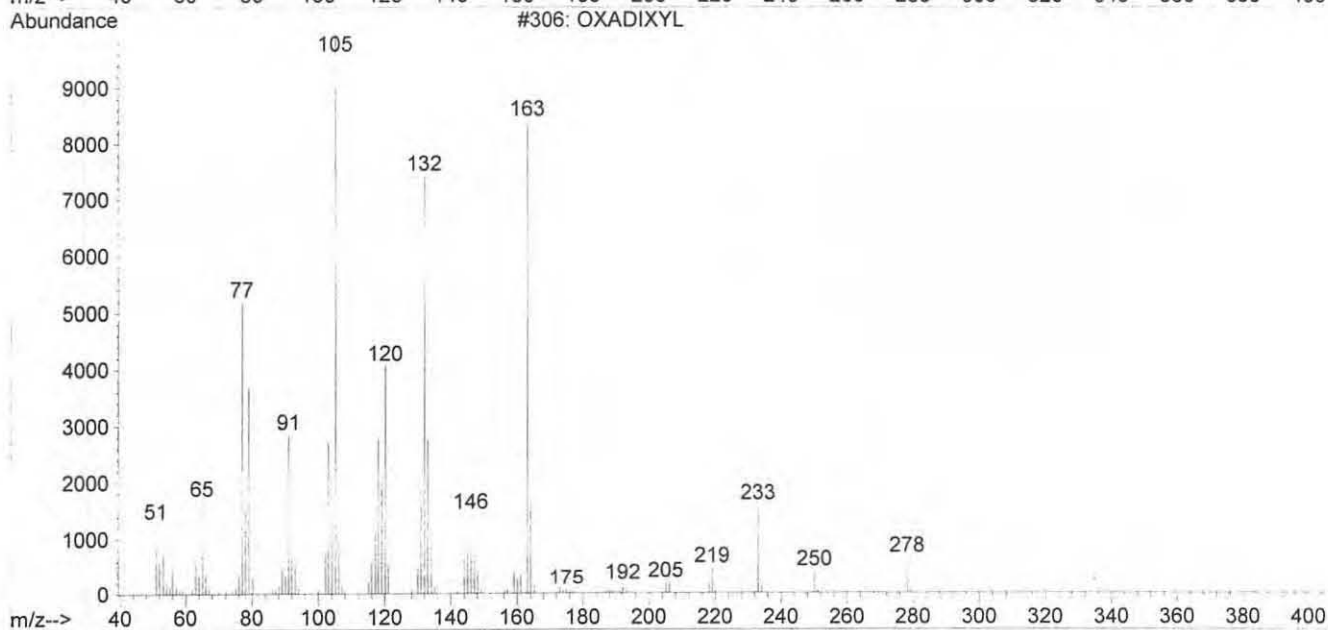
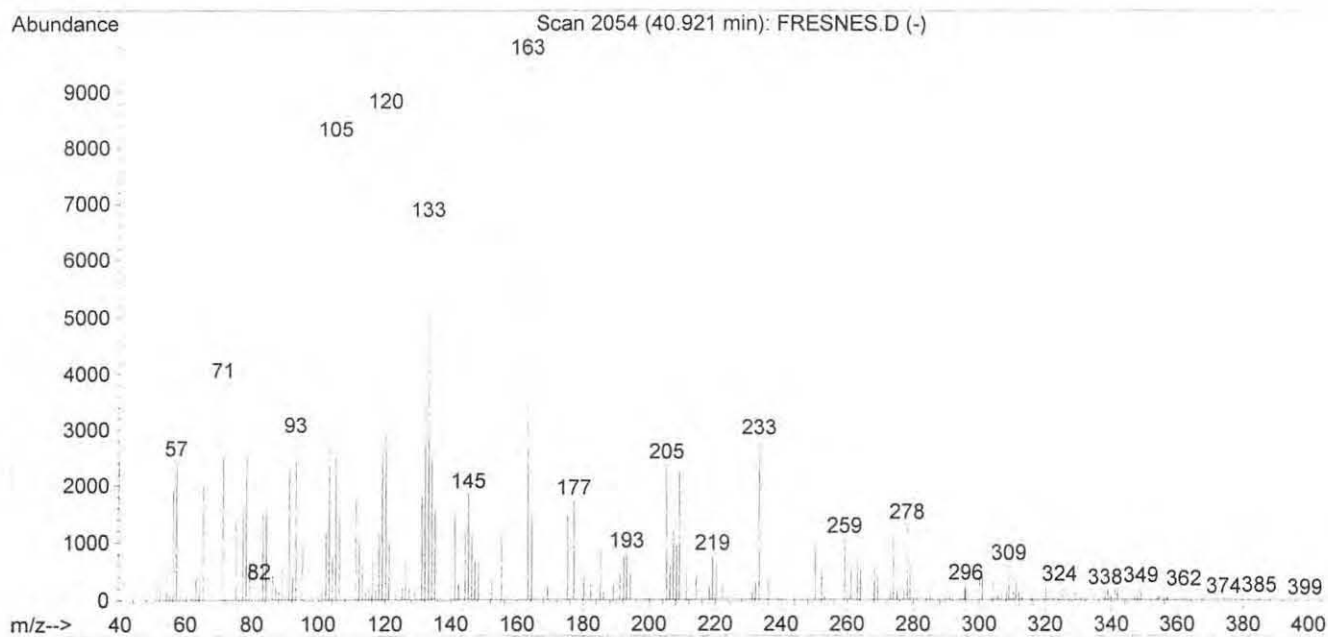
IUPAC NAME : 5-tert-butyl-3-(2,4-dichloro-5-isopropoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol



Library Searched : C:\DATABASE\IFREMER.L  
Quality : 96  
ID : Flusilazole



Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L  
Quality : 25  
ID : OXADIXYL  
IUPAC NAME: 2-methoxy-N-(2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl)acet-2',6'-xylidide

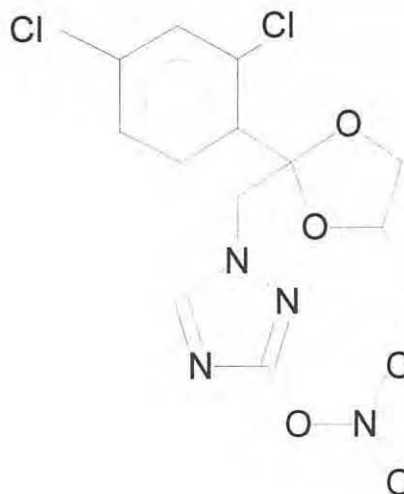
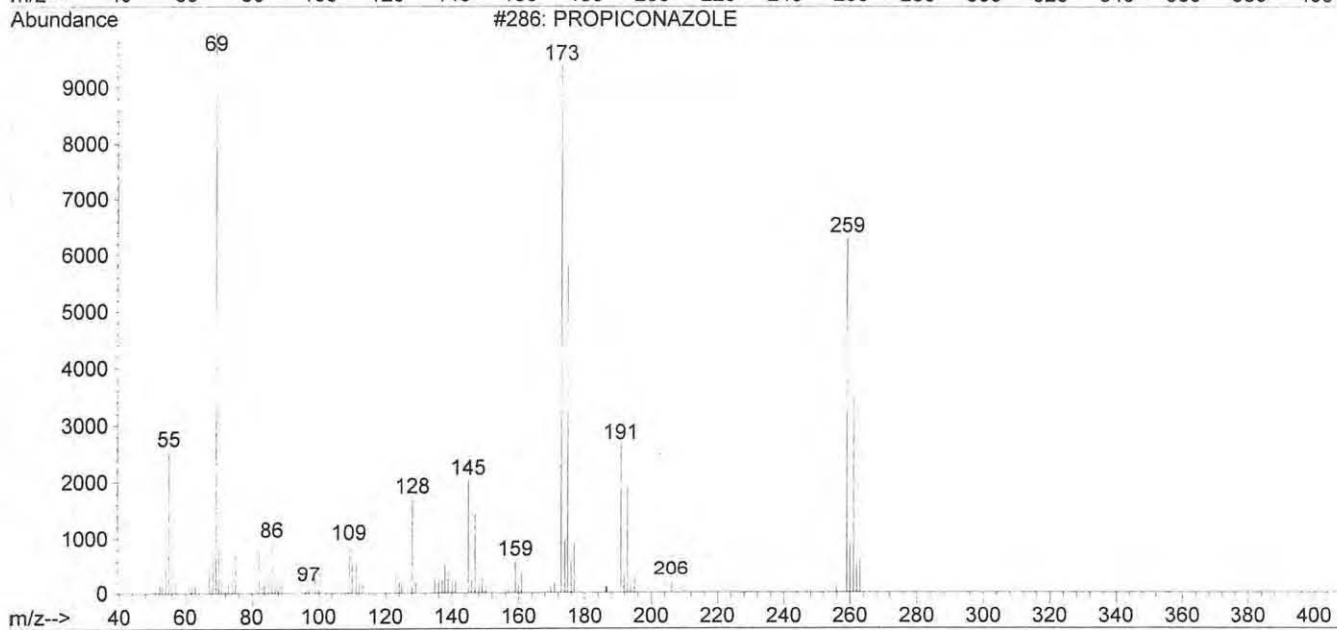
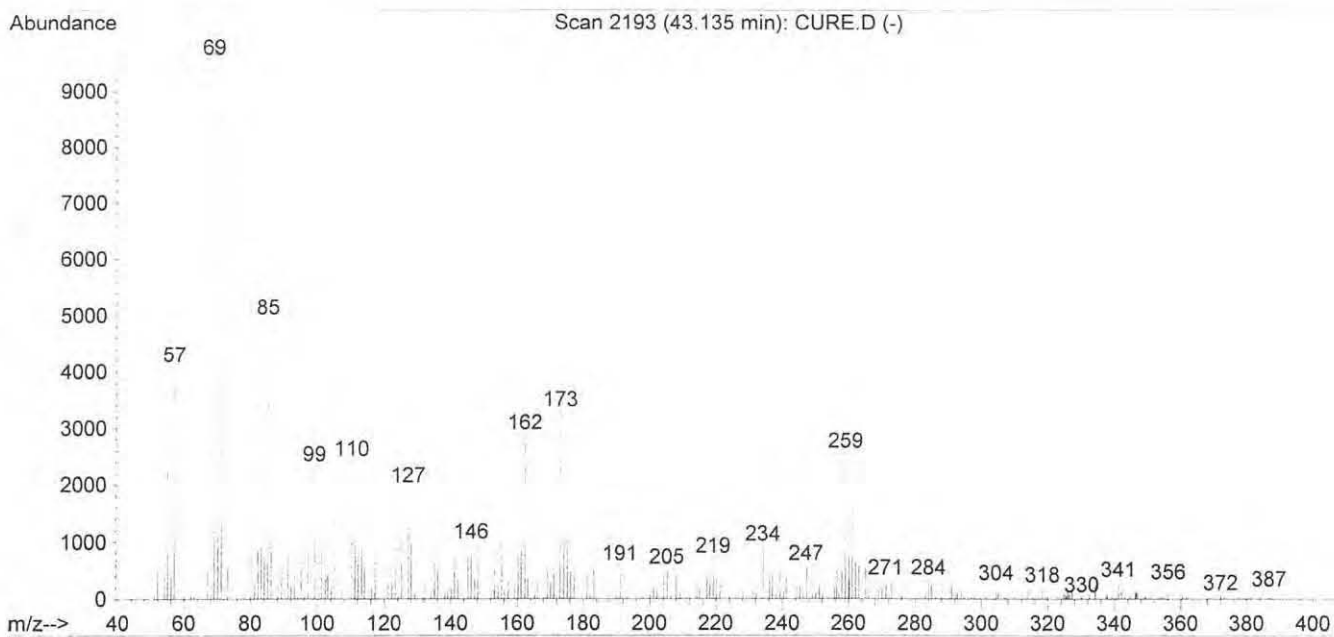


Library Searched : C:\DATABASE\PEST.L

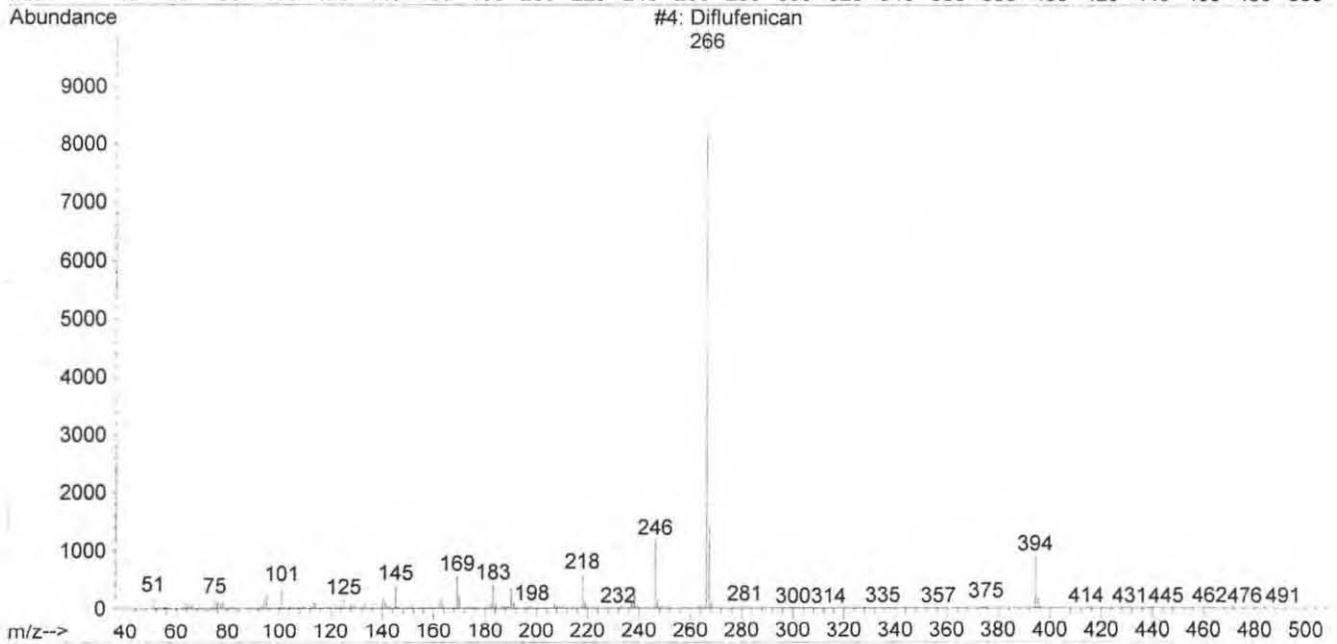
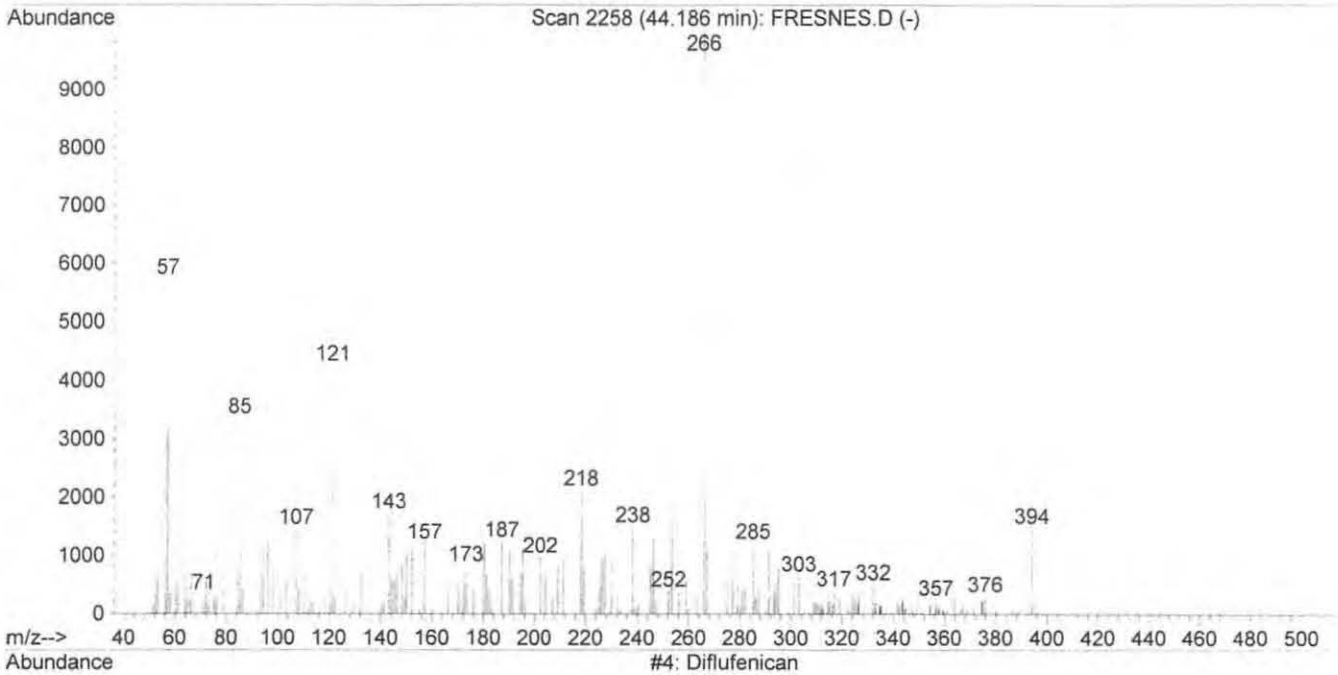
Quality : 12

ID : PROPICONAZOLE

IUPAC NAME: (+/-)-1-[2-(2,4-dichlorophenyl)-4-(propyl-1,3-dioxolan-2-yl)methyl



Library Searched : C:\DATABASE\IFREMER.L  
Quality : 50  
ID : Diflufenican







## Annexe 4

### 1. Séquence analytique générale

Tout le matériel de prélèvement et de prétraitement entrant en contact avec des échantillons ou des extraits est en Téflon, en acier inoxydable ou en verre. Le nettoyage est effectué en général en utilisant de l'eau et du détergent, des acides, de l'eau MilliQ et de l'eau bidistillée, des alcools, d'autres solvants organiques, et un conditionnement à 450°C pour le matériel en verre Pyrex. Les solvants organiques sont de qualité ATRASOL (analyse de trace, SDS, Peypin, France).

Les différentes étapes de la séquence analytique générale sont présentées à la figure A3.1. Dans la présente étude seulement les composés dissous ont été recherchés.

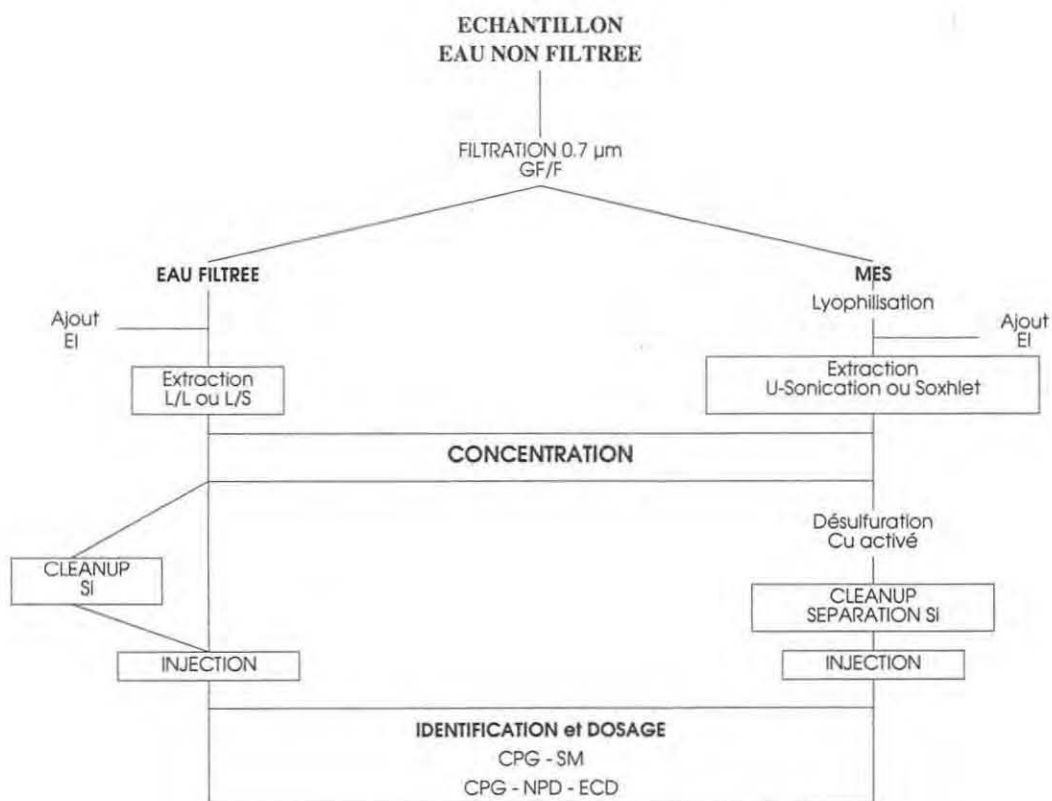


Figure A3.1. Séquence analytique générale.

## **2. Echantillonnage, filtration et ajout d'étalons internes**

Les prélèvements ont été effectués par pompage avec un système entièrement en Téflon dans des bonbonnes en verre. Ces bouteilles de prélèvement ont été nettoyées au détergent, rincées à l'eau MQ et au solvant. D'autres verreries en Pyrex ont en plus passé 12 heures au four à 450 °C. Tous les échantillons ont été filtrés en utilisant les filtres en fibre de verre (Whatman GF/F) de porosité nominale de 0,7 µm et de diamètre de 293 mm, préalablement calcinés au four pendant 12 heures à 450 °C. La filtration a été effectuée par pompage avec la pompe ASTI et le support de filtre en acier inoxydable (Millipore). Les échantillons filtrés ont été dopés avec des étalons internes de rendement. On utilise le dopage par le pretilachlor, un herbicide dont la présence n'a pas été révélée dans les eaux de la Loire à Montjean. Les résultats sont corrigés par rapport au rendement d'extraction.

## **3. Extraction**

L'extraction des produits phytosanitaires a été réalisée par une préconcentration sur le sorbant solide (résine XAD, polymère réticulé de styrène divinylbenzène) à partir des échantillons de 20 litres. Ce protocole de préconcentration permet d'extraire des produits phytosanitaires à partir d'un grand volume de l'échantillon et d'obtenir une limite de détection de l'ordre de 1 ng par litre. Ce niveau de sensibilité est nécessaire dans l'étude de la contamination des zones côtières et estuariennes par les pesticides. La possibilité de préconcentration à partir d'un grand volume permet également de récupérer une quantité suffisante de solutés étudiés pour effectuer les analyses du même échantillon en utilisant plusieurs techniques analytiques (par exemple : la CPG avec les colonnes à polarité différentes, CPG et chromatographie liquide couplées aux différents types de détecteurs, ou à la spectrométrie de masse). Cette technique garantit également une bonne rétention des solutés apolaires à moyennement polaires, et assure une influence faible ou nulle sur le rendement d'extraction des forces ioniques des échantillons salins.

## **4. Dosage des composés organoazotés et organochlorés**

Le dosage des produits phytosanitaires est effectué par la chromatographie en phase gazeuse capillaire (CPG) avec un détecteur thermoionique (NPD/TSD, Varian) dont la réponse est spécifique pour les composés organoazotés et organophosphorés. L'ensemble des conditions chromatographiques est présenté dans le tableau A3.1.

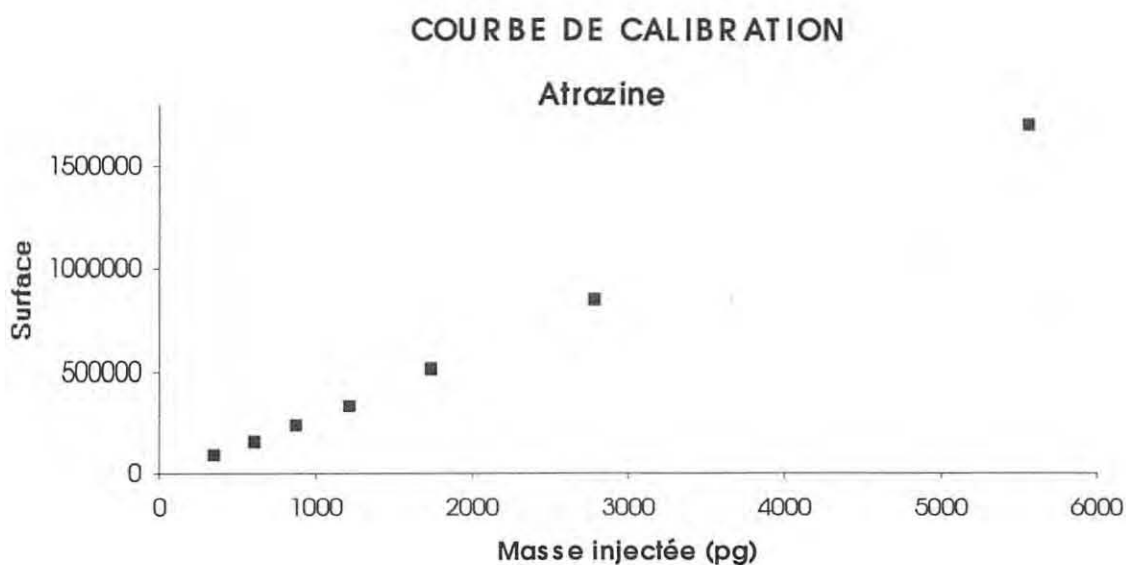
Tableau A3.1. Conditions opératoires d'analyses chromatographiques.

<i>CPG - TSD (NPD)</i>	<i>Paramètres opératoires</i>
<b>Chromatographe</b> Passeur d'échantillon <b>Injecteur</b> Insert d'injecteur Volume injecté Vitesse d'injection Température initiale d'injection Vitesse de la programmation Température finale <b>Détecteur</b> Température Débit de gaz Air H <sub>2</sub> He (make-up)  <b>Colonne capillaire</b> Phase Longueur Diamètre interne Epaisseur du film	Varian 3400 Varian 8100 Type SPI (septum température programmable) Haute performance 1 (µl) 0,2 (µl/s) 50 (°C) pendant 1 minute 120 °C par minute 260 °C pendant 60 minutes TSD (thermoionique spécifique détecteur Varian 300 °C  180 ml/min 4,5 ml/min 25 ml/min  DB-5 (J&W), silice fondu 5 % phényl -95% méthyle 30 m 0,32 mm 0,25 µm
<b>Gaz vecteur</b> Pression à la tête de la colonne Vitesse linéaire du gaz vecteur <b>Température initiale du four</b> 1 vitesse de programme de la température 1 palier de la température 2 vitesse de programme de la température 2 palier - température finale, isotherme	Hélium 108 kPa 25 cm/s 50 °C pendant 1 minute 15 °C /min 150 °C 3 °C/min 260 °C pendant 20 minutes

Les chromatogrammes de détecteurs TSD ont été présentés à l'annexe 1. On remarque qu'avec ces conditions opératoires on obtient la résolution requise des herbicides et de leurs produits de dégradation. L'identification formelle des composés et le "dépistage" d'autres contaminants sont réalisés par la chromatographie capillaire en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (CPG - SM) en mode d'ionisation par impact électronique.

### 5. Procédures de quantification

Le chromatographe est connecté à la station (PC) d'acquisition et de traitement des données chromatographiques STAR (Varian) qui permet une calibration rapide, multidimensionnelle et un contrôle du domaine de réponse linéaire du détecteur TSD. La quantification des composés organoazotés est effectuée en utilisant les courbes de calibrations d'étalons externes obtenues pour chaque composé individuel et pour chaque groupe d'échantillons (en moyenne 7 points de calibration pour 12 échantillons - composés organoazotés) Les domaines linéaires de réponses des détecteurs NPD ont été étudiés et sont respectés pendant la quantification. Deux exemples de courbe de calibration et linéarité de réponses du détecteur TSD pour l'atrazine sont donnés sur la figure A1. Pour les triazines et leurs produits de dégradation la réponse du détecteur linéaire a été établie pour une gamme de masse de 200 à 5000 pg de produit injecté. La quantification des herbicides dans les échantillons naturels est toujours effectuée dans le domaine de la réponse linéaire du détecteur.



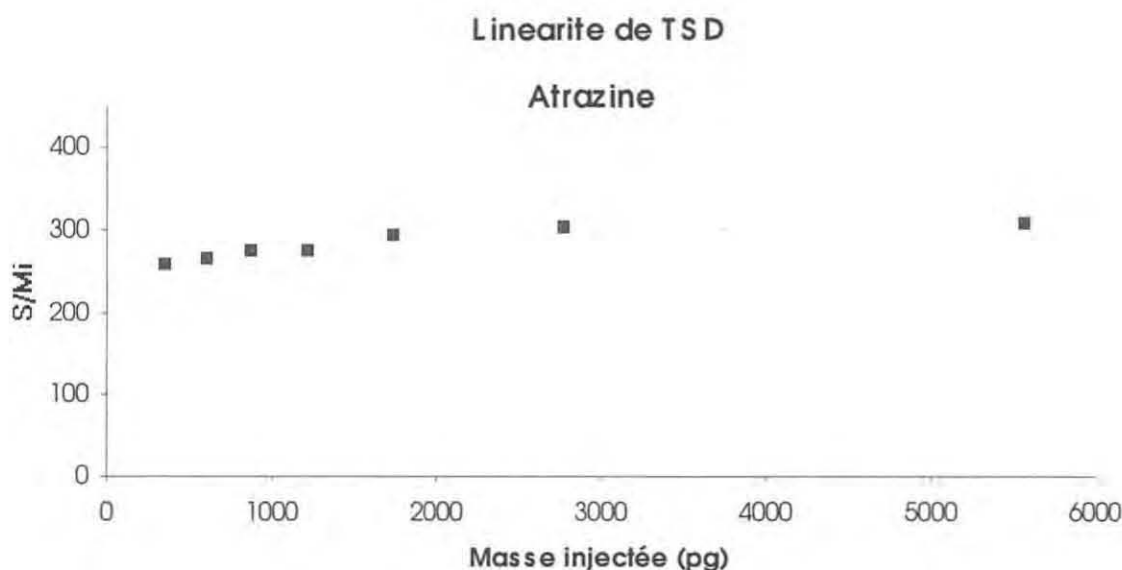


Figure A1. Courbes de calibration et de linéarité de détecteur NPD (TSD) ; quantification des composés organoazotés.

#### **6. Détermination des performances de la méthode analytique : précision, rendements, justesse**

La validation intra-laboratoire de la méthode a été effectuée par les évaluations statistiques (niveau = 5%) des performances analytiques de la méthode : la précision (sept répliquats), les rendements d'extraction (étalons internes pour chaque échantillon et ajout standard d'un mélange d'étalons sur 4 répliquats).

##### *Précision*

La précision de dosage des herbicides a été évaluée en analysant sept répliquats d'un échantillon naturel par la méthode d'extraction SPE (XAD-2). L'expression suivante de l'intervalle de confiance autour de la moyenne à été utilisée pour évaluer la précision :

$$m \pm \frac{(t * s)}{\frac{1}{2} n} (\%)$$

m = moyenne sur les n répliquats

t = valeur du test Student  $\alpha = 5\%$

s = écart type

Les résultats d'analyse de sept réplicats sont présentés dans le tableau A3.2. :

	Précision (%)
DEA	5
Simazine	4
Atrazine	2
Terbutylazine	7
Alachlore	1
Métolachlor	1

#### *Rendements*

Les rendements d'extraction d'un ajout de mélange d'étalons ont été estimés à partir de quatre réplicats. Les résultats sont présentés dans le tableau A3.3. :

	<i>Moyenne</i> (%)	<i>RSD</i>
DEA	92.3	5.9
Tebutam	87.8	6.3
Simazine	94.6	2.1
Atrazine	91.7	2.4
Terbutylazine	91.9	1.8
Alachlore	97.0	1.8
Métolachlor	106.6	1.3

La justesse de détermination des herbicides peut seulement être évaluée à partir de cet examen de rendements car le matériel certifié pour l'analyse des herbicides n'existe pas.

La précision de dosage des herbicides par notre méthode se situe à 1% pour l'alachlore et le métolachlor, à 3 et 4% pour la simazine et l'atrazine respectivement et à 5% pour la déséthylatrazine (DEA). Le niveau de rendement de l'extraction est généralement compris entre 90 et 100 %. La limite de détection est de l'ordre de  $1^{-9}$  g (1 ng) par litre pour les triazines. La mise en œuvre du dosage de contaminants organoazotés est relativement aisée, rapide et pourrait éventuellement être automatisée. Cette méthode permet de traiter un nombre d'échantillons relativement élevé.