CONTRIBUTION AU DEVELOPPEMENT ET A L'AMELIORATION DES TECHNIQUES D'ECHANTILLONNAGE PASSIF (DGT ET POCIS)

Développement et amélioration techniques EP: II-B-01 (16)

Gonzalez J-L., Munaron D., Podeur C., Tapie N., Budzinski H., Marusczak N., Montero N., Belzunce M-J.

Février 2012

Rapport Final

Programme scientifique et technique
Année 2011

Avec l'approbation de ONEMA Office national de l'eau et des milieux aquatiques

et le soutien de Ministère de l'Écologie, du Développement durable, des Transports et du Logement

AQUAREF
Consortium scientifique et technique
BRGM, Cemagref, IFREMER, INERIS et LNE

Avec l'approbation de ONEMA Office national de l'eau et des milieux aquatiques

et le soutien de Liberté • Égalité • Fraternité RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Ministère de l'Écologie, du Développement durable, des Transports et du Logement

Contexte de programmation et de réalisation

Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme d'activité d'Aquaref (année 2011) et a bénéficié de la participation du LPTC (Université de Bordeaux 1, EPOC, UMR 5805) et de AZTI-Tecnalia . Ce rapport représente un des livrables de l'action II-B01 " Développement et optimisation des technologies innovantes de prélèvement et d'analyse", action 16.

Auteur (s) :

Jean-Louis Gonzalez
Ifremer, Département "Biogéochimie et Ecotoxicologie" Centre de Méditerranée, ZP de Brégaillon CS 20330- 83507 La Seyne/mer cedex
Jean.Louis.Gonzalez@ifremer.fr

Dominique Munaron
Ifremer Laboratoire "Environnement et Ressources du Languedoc-Roussillon", Avenue Jean Monnet, BP 171, 34203 SETE cedex.
Dominique.Munaron@Ifremer.fr

Christian Podeur
Ifremer Département "Technologie des systèmes instrumentaux", Centre de Brest BP 70 Plouzané 29280
Christian. Podeur@ifremer.fr

Nathalie Tapie et Hélène Budzinski
Université de Bordeaux 1, EPOC, UMR 5805, 351 crs de la Libération, 33405 Talence
n.tapie@epoc.u-bordeaux1.fr
h.budzinski@epoc.u-bordeaux1.fr

Nicolas Marusczak
Ifremer Laboratoire "Environnement Ressources Provence Azur Corse", ZP de Brégaillon CS 20330 83500 LA SEYNE SUR MER cedex
Nicolas.Marusczak@ifremer.fr

Natalia Montero et Maria-Jesus Belzunce
AZTI - Tecnalia , Herrera kaia portualdea z/g, 20110 Pasaia (Gipuzkoa) ESPAGNE
nmontero@azti.es
jbelzunce@azti.es

Vérification du document :

Catherine Berho
BRGM - Centre scientifique et technique
3 avenue Claude-Guillemin
BP 36009
45060 Orléans Cedex 02

C.Berho@brgm.fr

Les correspondants

Onema : Pierre-François Staub, pierre-francois.staub@onema.fr

Etablissement :ONEMA-DAST, Le Nadar Hall C - 5 square Nadar - 94300 Vincennes

Référence du document : Jean-Louis Gonzalez *et al* – Contribution au développement et à l'amélioration des techniques d'échantillonnage passif (DGT et POCIS) – Rapport AQUAREF 2011 – 61p.

Droits d'usage :	*Accès libre*
Couverture géographique :	***France***
Niveau géographique :	***National***
Niveau de lecture :	***Professionnels, experts***
Nature de la ressource :	***Document***

Synthèse opérationnelle **p. 8**

1. Introduction p. 9
2. Stratégie p. 9
3. Contribution à l'amélioration de la technique POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) p. 10
3.1. Essai matériau "anti-fouling" **p. 12**
3.1.2. Sites expérimentaux **p. 13**
3.1.3. Période d'exposition **p. 13**
3.1.4. Protocole expérimental **p. 14**
3.1.5. Résultats **p. 15**
3.1.5.1. Développement du fouling à Thau **p. 16**
3.1.5.2. Développement du fouling au Lazaret **p. 17**
3.1.5.3. Conclusions **p. 19**
3.2. Evaluation du rôle du fouling sur le taux d'échantillonnage **p. 19**
3.2.1. Analyse des pesticides **p. 19**
3.2.2. Résultats **p. 20**
3.2.3. Conclusions **p. 25**
3.3. Influence de l'hydrodynamique sur le taux d'échantillonnage **p. 27**
3.3.1. Résultats **p. 28**
3.3.2. Conclusions **p. 30**
4. Amélioration des supports POCIS et DGT p. 33
4.1. Développement d'une nouvelle géométrie de cage POCIS **p. 33**
4.2. Support de transport et de mise en place DGT **p. 35**
5. DGT "spécial Hg": contribution au choix des DGT, des méthodes d'élution et des techniques d'analyse p. 36
5.1. Tests sur le terrain **p. 39**
5.1.1. Caractéristiques des DGT utilisés **p. 39**
5.1.2. Localisation du site d'immersion **p. 39**
5.1.3. Paramètres d'immersion et répartition des DGT pour analyses **p. 39**
5.1.4. Traitement et analyse des échantillons **p. 40**
5.1.5. Préparation des solutions d'élution **p. 41**
5.1.6. Les différentes techniques analytiques **p. 41**
5.1.7. Résultats **p. 42**
5.2. Tests en laboratoire **p. 44**
5.2.1. Protocole **p. 45**
5.2.2. Résultats **p. 46**
5.2.2.1. Calcul des concentrations dans l'eau des cuves **p. 50**
5.2.2.2. Calcul des concentrations *in situ* **p. 51**
5.3. Conclusions **p. 52**
6. Conclusions et perspectives p. 53
7. Références p. 54
8. Annexes p. 59

Liste des annexes :

Annexe 1: Liste des pesticides échantillonnées par la technique POCIS et analysés

Contribution au développement et à l'amélioration des techniques d'échantillonnage passif (DGT et POCIS)
Gonzalez J-L., Munaron D., Podeur C., Tapie N., Budzinski H., Montero N., Belzunce M-J.

RESUME

Ce projet est une contribution à l'amélioration et au développement des techniques d'échantillonnage passif.
Les objectifs sont:
- de trouver des solutions pour limiter la formation de fouling sur les échantillonneurs nécessitant des temps d'immersion prolongés (POCIS) et assurer taux d'échantillonnage "constant" et reproductible.
- de tester et valider les DGT développés spécialement pour Hg qui est un métal "DCE prioritaire"

Mots clés (thématique et géographique) :
Echantillonneurs passifs, POCIS, DGT, fouling, taux d'échantillonnage, Hg, baie du Lazaret , étang de Thau

Contribution au développement et à l'amélioration des techniques d'échantillonnage passif (DGT et POCIS)
Gonzalez J-L., Munaron D., Podeur C., Tapie N., Budzinski H., Montero N., Belzunce M-J.

ABSTRACT

This project is a contribution to the improvement and development of passive sampling techniques. The objectives are:
- to develop ways to limit the fouling formation on the samplers requiring prolonged immersion time (POCIS) and ensure a "constant" and reproducible sampling rate
- test and validate the DGT developed specifically for Hg wich is a "WFD priority" metal.

Key words (thematic and geographical area) :
Passive samplers, POCIS, DGT, fouling, sampling rate, Hg, baie du Lazaret , étang de Thau

Synthèse opérationnelle

La plupart des techniques d'échantillonnage passif ne sont pas applicables à tous les contaminants et peuvent présenter certaines limites dans les conditions et modes d'utilisation.
Parmi les principales limites, dans le cas des échantillonneurs qui nécessitent des temps d'intégration relativement importants (de l'ordre de 3 semaines pour la technique POCIS), l'immersion prolongée en milieu marin s'accompagne, en fonction du milieu, dans un premier temps de la formation d'un voile biologique qui sera suivi ensuite par le développement des biosalissures (fouling). Ces dernières peuvent être de nature très variée (algues, annélides, mollusques…).
Le taux d'échantillonnage des POCIS (qui doit être connu pour calculer les concentrations des composés dans l'eau) pourra varier de façon plus ou moins importante au cours du temps à cause des biosalissures. Dans le cas des DGT, le temps d'immersion étant beaucoup plus faible (quelques jours), ce processus est limité.
L'importance de ce processus sur les variations du taux d'échantillonnage doit être évaluée, notamment dans le cas du milieu marin. Dans le cadre de ce projet, l'influence du fouling sur le taux d'échantillonnage et le choix des matériaux "anti-fouling" seront déterminés expérimentalement sur le terrain en comparant les résultats obtenus, sur des sites différents, dans des conditions où le fouling est important.
Par ailleurs, dans le cas particulier des POCIS, il n'est pas toujours aisé de connaître avec précision les conditions de turbulence ou d'agitation du milieu pendant la durée de l'exposition. Or la turbulence du milieu est un facteur clé qui va conditionner le taux d'échantillonnage réel du POCIS. L'une des solutions pour évaluer l'importance de ce facteur et limiter ce type de problème repose sur le développement d'un système d'agitation automatique *in situ* permettant d'assurer un taux d'échantillonnage reproductible quelque soit la turbulence du milieu. De plus, ce système devrait permettre une meilleure calibration en laboratoire, car les mêmes conditions d'agitation pourront être réalisées.
Les DGT "classiques" ne permettent pas de réaliser Hg qui fait partie avec Cd, Ni et Pb des métaux "DCE prioritaires". Avec les DGT "classiques", les mesures de Hg sont limitées par les faibles concentrations de Hg "dissous" que l'on rencontre habituellement dans le milieu, lesquelles nécessitent d'avoir des temps d'exposition plus importants. De plus, le gel de diffusion utilisé dans les DGT "classiques" pourrait fixer une partie du mercure sous forme Hg II (Bicak and Sherrington, 1995; Docekalova and Divis, 2005), ainsi le mercure fixé sur la résine ne sera pas représentatif de la concentration en Hg "dissous" dans la colonne d'eau (une partie plus ou moins importante ayant été fixée dans le gel de diffusion). Le remplacement du gel "classique" (polyacrylamide) par un gel agarose permet d'utiliser la technique DGT pour Hg car il ce type de gel n'interfère pas avec le mercure qui diffuse. Ces DGT sont constitués d'une résine "Spheron-thiol" qui permet de "fixer" aussi les espèces de Hg associés à des complexants organiques forts (thiols par exemple). L'utilisation de cette approche implique dans un premier de faire des tests de validation car à l'heure actuelle il existe très peu de données sur l'utilisation de ce type de DGT en milieu naturel.

1. Introduction

Les techniques d'échantillonnage sont de plus en plus utilisées aussi bien dans le domaine de la recherche que celui de la surveillance de l'environnement. Mais la plupart de ces techniques ne sont pas applicables à tous les contaminants et peuvent présenter certaines limites dans les conditions et modes d'utilisation.

Dans le cas des échantillonneurs nécessitant des temps d'exposition importants (2 à 3 semaines pour les POCIS), l'immersion prolongée en milieu marin s'accompagne, en fonction du milieu, dans un premier temps de la formation d'un voile biologique qui sera suivi ensuite par le développement des biosalissures (fouling). Ces dernières peuvent être de nature très variée (bactéries, algues, annélides, mollusques…).
Le taux d'échantillonnage, qui doit être connu pour calculer les concentrations des composés dans l'eau, pourra varier de façon plus ou moins importante au cours du temps à cause du développement des biosalissures.
De plus, dans le cas des POCIS, il est difficile de connaître avec précision l'évolution de la turbulence ou de l'agitation du milieu pendant la durée de l'exposition. Or cette turbulence est un facteur important pour déterminer le taux d'échantillonnage réel du POCIS.

Certaines techniques ne permettent pas de réaliser l'échantillonnage de tous les contaminants d'une même famille. C'est le cas des DGT "classiques" qui ne permettent pas de d'extraire et concentrer Hg qui fait partie avec Cd, Ni et Pb des métaux "DCE prioritaires".
Avec les DGT "classiques", les mesures de Hg sont limitées par les faibles concentrations de Hg "dissous" que l'on rencontre habituellement dans le milieu, lesquelles nécessitent d'avoir des temps d'exposition plus importants. De plus, le gel de diffusion utilisé dans les DGT "classiques" pourrait fixer une partie du mercure sous forme Hg II (Bicak and Sherrington, 1995; Docekalova and Divis, 2005), ainsi le mercure fixé sur la résine ne sera pas représentatif de la concentration en Hg "dissous" dans la colonne d'eau (une partie plus ou moins importante ayant été fixée dans le gel de diffusion). Le remplacement du gel "classique" (polyacrylamide) par un gel agarose permet d'utiliser la technique DGT pour Hg car il ce type de gel n'interfère pas avec le mercure qui diffuse. Ces DGT sont constitués d'une résine "Sphéron-thiol" qui permet de "fixer" aussi les espèces de Hg associés à des complexants organiques forts (thiols par exemple). L'utilisation de cette approche implique dans un premier de faire des tests de validation car à l'heure actuelle il existe très peu de données sur l'utilisation de ce type de DGT en milieu naturel.

Objectifs:

- Tester et développer différentes solutions techniques pour limiter la formation de fouling sur les POCIS et assurer un taux d'échantillonnage constant et reproductible;
- Tester et contribuer à la validation des DGT "spécial Hg" pour inclure le suivi du Hg dans la "panoplie" actuelle des systèmes d'échantillonnage passif.

2. Stratégie

En ce qui concerne la technique POCIS, l'importance du fouling sur les variations du taux d'échantillonnage a été évaluée *in situ*. L'influence de ce processus sur le taux d'échantillonnage et le choix des matériaux "anti-fouling" ont été déterminés expérimentalement sur le terrain en comparant les résultats obtenus avec des POCIS "standard" et des POCIS "anti-fouling", sur des sites et à une période où le fouling est important (Thau et baie du Lazaret). Afin d'améliorer l'aspect quantitatif de la technique et d'intégrer des variations du taux d'échantillonnage (dues au développement de fouling

et des changements des conditions hydrodynamiques), des composés de référence et de performance (PRC) ont été introduits dans les POCIS avant leur exposition.

De plus, l'influence des variations des conditions hydrodynamiques au voisinage des POCIS a été testée grâce au développement d'un système d'agitation automatique *in situ* permettant un taux d'échantillonnage constant en assurant une vitesse de rotation du POCIS constante durant toute la durée d'exposition. Les résultats de POCIS immergés sur le même site avec des vitesses de rotation différentes ont été comparés pour évaluer quantitativement l'influence de la turbulence du milieu. De plus, ce système permettra une meilleure calibration en laboratoire (ou sur le terrain), car les mêmes conditions d'agitation pourront être reproduites.

Afin d'augmenter l'opérationnalité de la méthode, une nouvelle géométrie de cage a été développée afin de: faciliter les opérations préalables à la mise en place et suite à la récupération des POCIS; limiter les risques de contamination lors de ces opérations; rendre le système plus compact (réduction du volume pour faciliter le stockage et diminuer les coûts de transport).

Concernant le mercure, des DGT "spécial Hg" ont été testés sur le terrain. Une part importante du travail a été consacrée au choix des méthodes d'élution et d'analyse du Hg concentré par la résine des DGT (mesure directe par voie "solide" ou par voie humide après une phase d'extraction/concentration). L'opérationnalité est l'un des critères de choix: DGT "sur étagère" (dispositif prêt à l'emploi, pas de fabrication des résines ou gels en laboratoire); méthode d'élution simple à mettre en oeuvre; méthode analytique simple (si possible par voie sèche, sans étape d'élution, sur appareil peu coûteux et facile à utiliser).

3. Contribution à l'amélioration de la technique POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler)

Cette technique permet d'extraire et concentrer *in situ* des composés hydrophiles ($1 < \text{Log}K_{ow} < 3$) de type herbicides, substances pharmaceutiques, alkylphénols. Les POCIS font déjà partie des outils utilisés dans les programmes de surveillance de différents pays de l'U.E. et aux Etats-Unis (notamment par des agences fédérales: USGS, USEPA, US Fish and Wildlife Service) et ils ont été adoptés par l'Agence de l'Environnement pour assurer une partie de l'étude nationale sur les pesticides.
Ils peuvent être utilisés directement en analyse qualitative (pour marquer la présence ou l'absence des composés dans l'eau), mais en évaluant le taux d'échantillonnage (Rs), ils permettent une analyse quantitative grâce à l'estimation de la concentration "moyenne" dans l'eau (intégrée dans le temps). Rs est contrôlé par les conditions hydrodynamiques, la présence de fouling (salissures) sur la surface d'échange de l'échantillonneur et les conditions physico-chimiques lors de l'exposition (température et salinité), ainsi que les propriétés intrinsèques des composés dont on veut connaître la concentration. L'évaluation du taux d'échantillonnage peut se faire expérimentalement (calibration en conditions de laboratoire "contrôlées") ou *in situ* (au cours de la période d'exposition) grâce à l'ajout de composés de référence et de performance (PRC) qui sont introduits dans les POCIS avant leur exposition (Mazzella *et al*, 2007; 2010; Huckins *et al*, 2002).

Cette dernière approche a permis d'améliorer de façon très importante l'aspect quantitatif de la technique POCIS pour certains composés. Les PRC sont des molécules non interférentes, isotopiquement substitués dont la désorption durant la période d'exposition permet de calculer un taux d'échantillonnage *in situ* ($Rs_{in\ situ}$). La molécule PRC utilisée ici est la DIA d_5 (déisopropyl-atrazine d_5). Ce PRC a été validé en eau douce par Mazzella *et al*. (2010) et validée en eau de mer lors de la thèse d'Angel Belles (Thèse actuellement en cours et encadrée par Hélène Budzinski, UMR CNRS 5805 EPOC, Université Bordeaux 1).

Le taux d'échantillonnage (Rs) établit un lien direct entre la quantité de composés retenue par les POCIS et leur concentration dans le milieu (Alvarez *et al.*, 2004; Vrana *et al.*, 2005):

$$[C_{pocis}] = [C_{eau}] \times Rs \times t$$

où
$[C_{pocis}]$: Concentration dans le POCIS ($ng.g^{-1}$)
$[C_{eau}]$: Concentration moyenne dans l'eau pendant la période d'exposition ($ng.L^{-1}$)
Rs : Taux d'échantillonnage ($L.\ j^{-1}.g^{-1[C1]}$)
t : Temps (j)

Afin de pouvoir déterminer la concentration des composés ciblés dans l'eau à partir de la quantité de composés accumulés dans le POCIS, il faut donc connaître le temps d'exposition (t) et le taux d'échantillonnage (Rs) de chaque molécule ciblée. Cependant le Rs est soumis à des variations en fonction des conditions du milieu (courant, turbulence, température, biofouling, salinité…) L'ajout de PRC dans les POCIS permet d'évaluer l'influence des conditions environnementales d'exposition sur le Rs (Mazzella *et al.*, 2010, Huckins *et al.*, 2002). En effet, la désorption de ces composés traceurs durant la période d'exposition va permettre le calcul d'une constante de désorption (ke) qui suit une cinétique d'ordre 1 dans le cas d'échange isotrope :

$$\frac{d\,C_{POCIS}}{dt} = -ke\,C_{POCIS}$$

L'introduction de PRC et le suivi de leur désorption du POCIS vers le milieu va donc permettre de calculer la constante de désorption ke des PRC in situ.

$$k_{e\ PRC\ in\ situ} = -\ln\frac{[C_{\ POCIS\ prc}]}{[C_{\ POCIS\ prc\ t0}]}\ /t$$

où
ke : constante de désorption
[C POCIS prc] : concentration des PRC après exposition des POCIS
[C POCIS prc to] : concentration des PRC avant exposition des POCIS
t : temps d'exposition

Cette constante ke est directement corrélée au Rs et varie en fonction des conditions du milieu, plus le ke est faible plus le Rs sera faible, et inversement (Fig. 1). L'obtention de cette constante dans les conditions environnementales permet ensuite par comparaison aux Rs et aux ke obtenues durant les calibrations en laboratoire de déterminer un Rs *in situ* (Petty *et al*, 2004):

$$Rs_{in\ situ} = (ke_{in\ situ} / ke_{calibration}) \times Rs_{calibration}$$

où
$Rs_{in\ situ}$: Taux d'échantillonnage calculé in situ dans les conditions environnementales.
$ke_{in\ situ}$: Constante de dépuration déterminé in situ dans les conditions environnementales.
$ke_{calibration}$: Constante de dépuration déterminé en laboratoire en conditions contrôlées.
$Rs_{calibration}$: Taux d'échantillonnage déterminé en laboratoire en conditions contrôlées.

Rs *in situ* déterminé dans les conditions d'exposition *in situ* va permettre de déterminer la concentration des composés ciblés dans le milieu exprimé en ng/L. L'ensemble de l'approche PRC est résumé dans la figure 2.

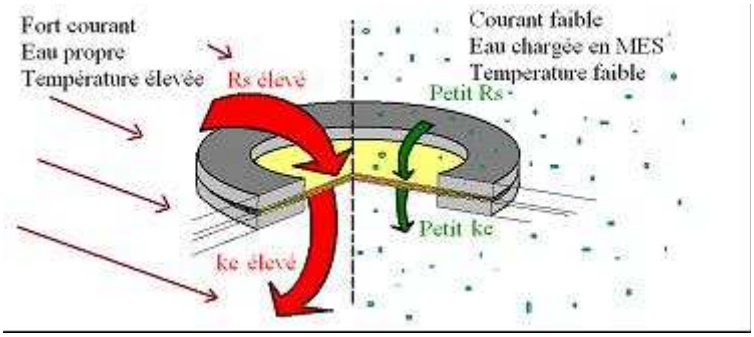


Figure 1: Facteurs influençant le ke et le Rs (Belles com. pers.).

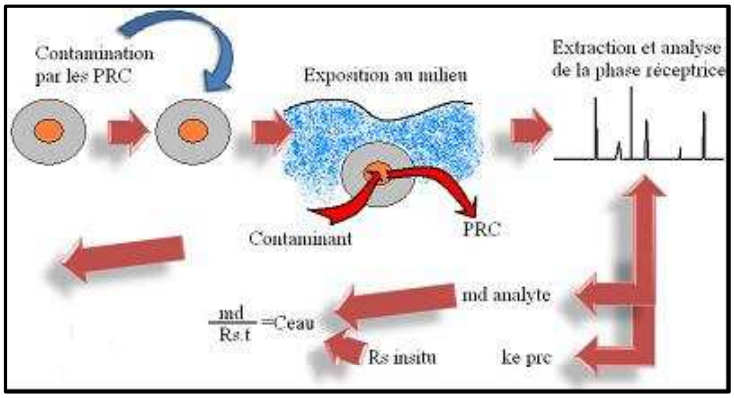


Figure 2: Principe de quantification par les PRC (Belles com. pers.) [PRC : Performance Reference Compounds; md : masse d'analytes après exposition; ke : constante de dépuration; Rs : taux d'échantillonnage].

La technique POCIS nécessite des temps d'exposition importants (2 à 3 semaines), pour être réellement quantitative (Alvarez *et al*, 2004), l'immersion prolongée en milieu marin s'accompagne, en fonction du milieu, dans un premier temps de la formation d'un voile biologique qui sera suivi ensuite par le développement de biosalissures (Henschel and Cook, 1990; Clare *et al*, 2000; Darkangelo *et al*, 2000; Webb and Keough, 2000; Van Hullebusch *et al*, 2003). Ces dernières peuvent être de nature très variée (bactéries, algues, annélides, mollusques…).

De plus, dans le cas des POCIS, il est difficile de connaître avec précision l'évolution de la turbulence ou de l'agitation du milieu pendant la durée de l'exposition. Or cette turbulence est un facteur important pour déterminer le taux d'échantillonnage réel du POCIS.

Concernant la technique POCIS, l'un des objectifs principaux du projet a été d'optimiser la durée d'exposition et la représentativité des résultats obtenus des POCIS en milieu marin.

3.1. Essai matériau "anti-fouling"

Depuis l'antiquité, le cuivre est connu pour des propriétés anti-fouling. Il était utilisé directement sous forme de plaques fixées aux coques des navires pour limiter la formation de biosalissures.

Des cages, supports de disques et disques POCIS ont été fabriqués en cuivre (Fig. 3)

Figure 3: Schéma et photographie des cages, supports de disques et disques réalisés en cuivre

3.1.2. Sites expérimentaux

Deux sites d'étude différents ont été choisis (Fig. 4): la baie du Lazaret (atelier conchylicole) et l'étang de Thau (table ostréicole Ifremer).

3.1.3. Période d'exposition

L'immersion des POCIS sur les deux sites a été choisie pendant les périodes où le fouling sur ces sites peut être important:

- Thau : du 17 mars au 27 avril 2011 (41 jours)
- Lazaret : 21 mars au 5 mai 2011 (45 jours)

L'évolution de la température et de la salinité au cours de la période d'immersion sur les deux sites est présentée sur la figure 5. Il est à noter que sur les deux sites, la température de l'eau augmente de façon importante, de l'ordre de 8°C à Thau et de l'ordre de 4°C au Lazaret, tandis que la salinité varie assez peu.

Figure 4: Sites d'immersion des POCIS

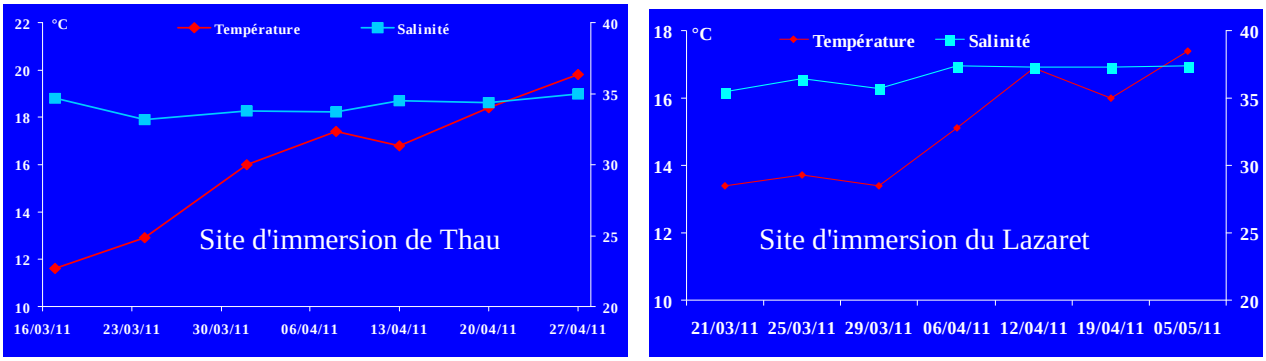


Figure 5: Evolution de la température et de la salinité au cours de la période d'immersion

3.1.4. Protocole expérimental

Dans chacun des 2 sites, 2 cages POCIS ont été immergées (Fig. 6):
- 1 cage Inox;
- 1 cage Cuivre.

Chaque cage contient 3 triplicats POCIS Inox (disques et support) et 3 triplicats POCIS Cuivre (disques et support).

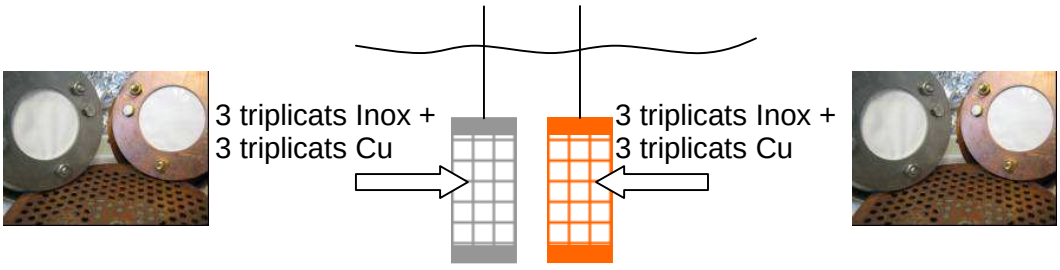


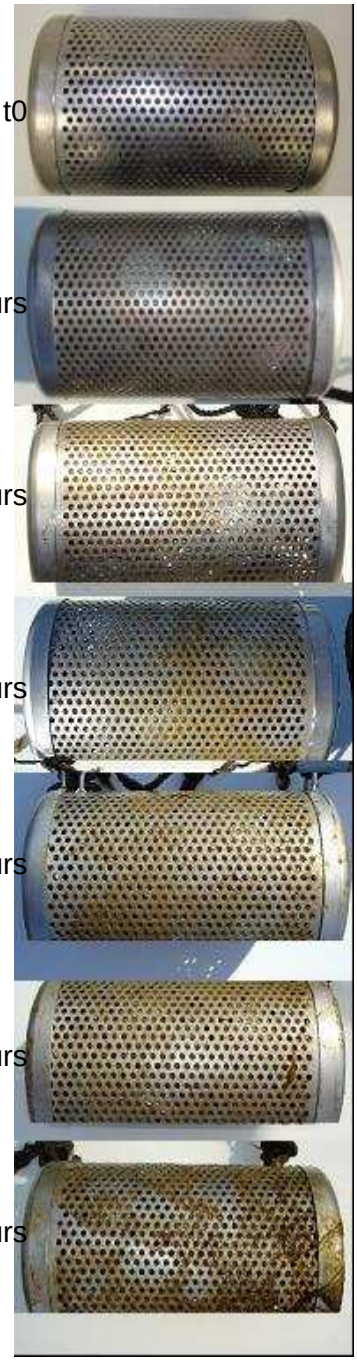
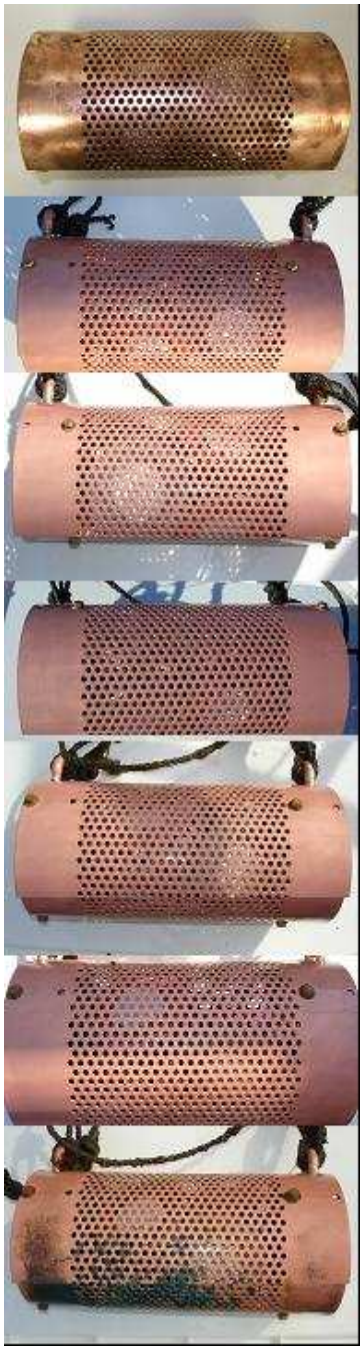
Figure 6: POCIS immergés sur chaque site

Les POCIS utilisés sont constitués d'une phase OASIS HLB (200mg). Les membranes sont en polyéthersulfone (PES), la surface d'échange est de 45.8 cm^2. Tous les POCIS utilisés pour cette expérimentation ont été fabriqués par le LPTC (Université de Bordeaux I), sur le modèle des POCIS commerciaux.

3.1.5. Résultats

Le suivi du développement du fouling a été réalisé qualitativement en comparant pour chaque site les dispositifs POCIS classiques en inox et les dispositifs en cuivre immergés au même endroit.
Au cours de la période d'immersion, les cages sont relevées ponctuellement et ouvertes pour pouvoir photographier la surface des cages ainsi que les différents POCIS.

3.1.5.1. Développement du fouling à Thau

	 **Cage Inox**	 **Cage Cuivre**
t0		
t7 jours	Couche "bactérienne" non homogène	
t15 jours	Couche bactérienne homogène	
t22 jours	Couche micro-algues non homogène	Début ternissement
t27 jours	Couche micro-algues homogène + apparition de gros filaments	
t34 jours	Développement rapide du fouling, début de colmatage des trous de la cage	Oxydation d'un coté, traces noires d'oxyde
t41 jours	Fouling important sur la totalité de la cage, colmatage important des trous de la cage	Oxydation prononcée (oxyde cuivrique + $Cu_2Cl(OH)_3$ Atacamite ?)

Evolution des POCIS dans la cage en Inox

Evolution des POCIS dans la cage en cuivre

t0

t7 jours

t15 jours

Inox: début de développement "bactérien".
Cu: RAS

Inox: début de développement "bactérien".
Cu: RAS

t22 jours

Inox: couche "bactérienne" + dépôts.
Cu : ternissement

Inox: couche "bactérienne" homogène.
Cu : RAS

t27 jours

Inox : fouling homogène important.
Cu : oxydation (noire) sur disques, membranes peu sales

Inox : Fouling homogène peu important.
Cu : RAS

t34 jours

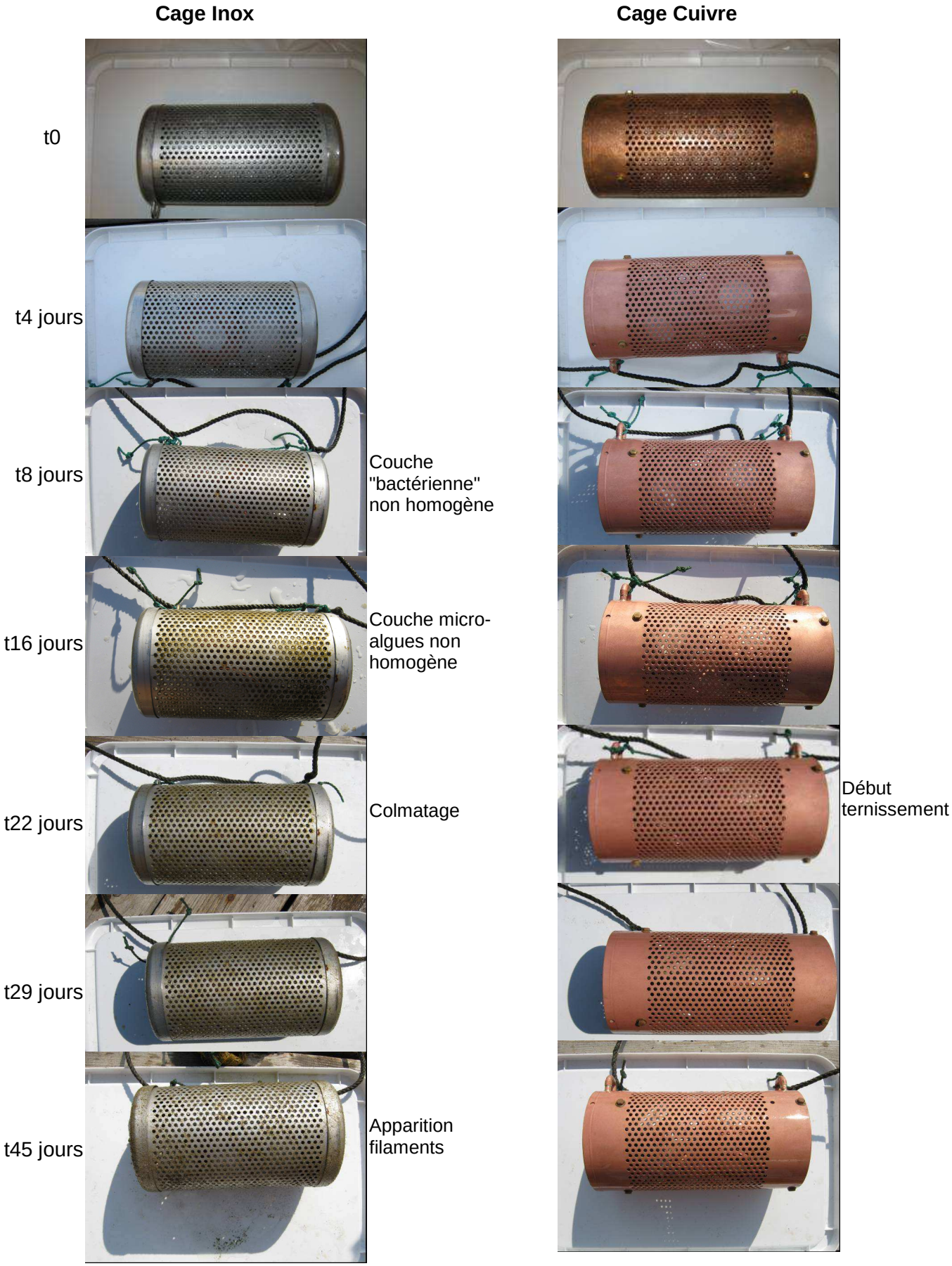
Inox : Fouling homogène modéré Cu : Oxydation noire généralisée sur disques, membranes sales avec contour vert

Inox : Fouling homogène modéré
Cu : Oxydation sur disques, membranes peu sales

t41 jours

Inox : Fouling important sur membrane et disques
Cu : oxydation importante des disques, membranes peu sales

3.1.5.2. Développement du fouling au Lazaret



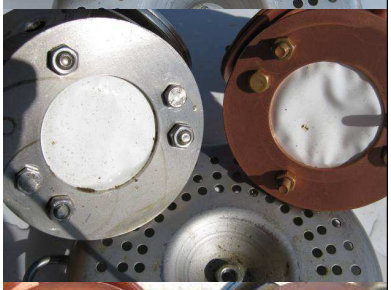
Evolution des POCIS dans la cage en Inox

Evolution des POCIS dans la cage en cuivre

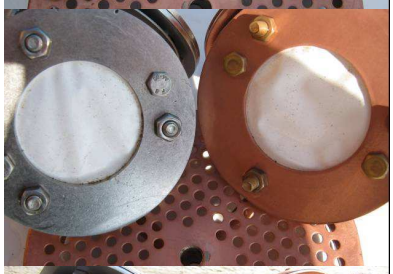
t0

t4 jours

t8 jours



Inox: début de développement "bactérien".
Cu: RAS

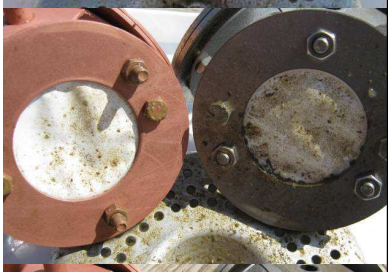


t16 jours

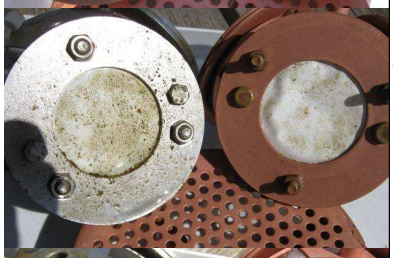
Inox: Recouvrement quasi complet. Particules, développement algal.
Cu: Début recouvrement, particules.

Inox et Cu: début recouvrement et particules

t22 jours



Inox: Recouvrement quasi complet. Particules, développement algal.
Cu: Début recouvrement, particules.



Inox: début développement algal important, particules
Cu: augmentation du recouvrement.

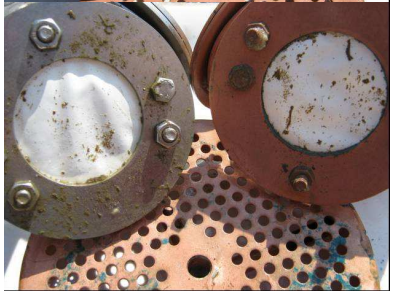
t29 jours

Inox: développement algal très important.
Cu: augmentation du recouvrement.

Inox: développement algal important.
Cu: augmentation du recouvrement.

t45 jours

Inox : réduction du recouvrement.
Cu: réduction du recouvrement, forte oxydation.



Inox et Cu: réduction du recouvrement.

3.1.5.3. Conclusions

Les résultats confirment l'effet antifouling évident du cuivre par rapport à l'Inox. Il semble possible de pouvoir améliorer la durée et les conditions d'exposition avec un dispositif POCIS en cuivre. En conditions printanières, à Thau l'apparition de fouling a été retardée d'environ 7 jours avec un dispositif "tout cuivre" et d'environ 8 jours au Lazaret.

Vis-à-vis du fouling des membranes POCIS, l'effet de la cage en cuivre est plutôt limité par rapport à celui du matériau dont sont constitués les disques et les supports de disque. Cette donnée est importante car elle permet de réduire les coûts de réalisation et le poids de l'ensemble (les systèmes en cuivre étant plus chers et plus lourds). Il semble qu'un système POCIS constitué d'une cage en inox et de supports de disques et de disques en cuivre soit un bon compromis.

Il convient de déterminer s'il y a un l'effet quantitatif résultant de l'utilisation de matériaux différents.

3.2. Evaluation du rôle du fouling sur le taux d'échantillonnage

Des pesticides (annexe 1: liste des 98 composés analysés) ont été analysés sur les POCIS en cuivre et Inox issus des immersions sur les sites de Thau et du Lazaret. Les résultats devraient montrer s'il y a un effet quantitatif (sur le taux d'échantillonnage) de l'effet du fouling, plus ou moins important en fonction des matériaux (cuivre ou Inox).
Le traitement des POCIS et les analyses ont été réalisés par le laboratoire EPOC (UMR 5805 CNRS-Université de Bordeaux I). Après récupération dans le milieu, les échantillonneurs ont été congelés au laboratoire et stockés à -20° C avant envoi pour analyses.

3.2.1. Analyse des pesticides

Pour les analyses menées au laboratoire, les POCIS sont sortis du congélateur environ une heure avant le début du protocole d'analyse. Ils sont ensuite désassemblés afin de récupérer la phase adsorbante contenue entre les deux membranes. Les vis de maintien des POCIS sont dévissées, les deux parties sont délicatement écartées. La phase reste "fixée" sur les membranes en polyéthersulfone. Elle est récupérée par rinçage des membranes à l'eau de Vittel directement dans des cartouches SPE de 6 ml en verre. Les cartouches SPE contenant la phase sont ensuite placées sur une "cuve à vide", puis séchées sous vide afin d'éliminer toute trace d'eau. Les cartouches SPE sont préalablement tarées afin de pouvoir déterminer la masse de phase réellement extraite.

La quantification des pesticides est réalisée par étalonnage interne. Les étalons internes (alachlore d_{13}, atrazine d_5, diuron d_6, hexazinone d_6, simazine d_{10}, terbuthylazine d_5) sont introduits par gravimétrie dans les flacons d'élution. Les pesticides sont élués de la phase successivement par 10 ml de méthanol, puis 10 ml d'un mélange méthanol / dichlorométhane (v/v : 50/50), puis 10 ml de DCM. Les extraits sont récupérés dans les flacons d'élution contenant les étalons internes. L'extrait est ensuite reconcentré, trois aliquotes sont réalisés :

- une aliquote de sauvegarde (conservée à -20°C);

- une aliquote pour l'analyse des pesticides en LC/MS/MS. Cette aliquote est reconcentrée sous flux d'azote, puis reprise dans du méthanol (centaine de µl). Elle est ensuite injecté en LC/MS/MS pour l'analyse des composés suivants : acétochlore, acétochlore ESA, acétochlore OA, alachlore, améthryne, atrazine, atrazine 2 hydroxy, azoxystrobine, bentazone, carbendazime, carbétamide, carbofuran, carbosulfan, chlorotoluron, chlorsulfuron, cyanazine, cyromazine, deséthylatrazine (DEA), desisopropylatrazine (DIA),

desisopropylatrazine (DIA d_5), diflufénican, dimétachlore, diuron, 1,2,4 dichloro-phénylurée (124 dcpu), 1,3,4 dichlorophénylurée (134 dcpu), 1,3,4 dichlorophényl (3) méthylurée (dcpmu), diméthyltolylsulfamide (DMST), diméthylphenylsulfamide (DMSA),flazasulfuron, fluazifop-p-butyl, flusilazole, hexazinone, hydroxysimazine, imidaclopride, irgarol, isoproturon, linuron, métazachlore, méthiocarbe, métolachlore, métolachlore ESA, métolachlore OA, métoxuron, métsulfuron-méthyl, nicosulfuron, prométhrine, propachlore, propazine, propiconazole, prosulfuron, pyméthrozine, quizalofop-ethyl, quizalofop-p-téfuryl, simazine, terbuthrine, terbuthylazine, terbutylazine deséthyl, thiaméthoxan;

- une aliquote pour l'analyse des pesticides en GC/MS/MS. Cette troisième aliquote est reconcentrée sous flux d'azote et repris par de l'acétate d'éthyle (centaine de µl). Elle est ensuite injectée en GC/MS/MS pour l'analyse des composés suivants: acrinathrine, bifenthrine, chlorfenvinphos, chlorméphos, chlorpyrifos-éthyl, chlorpyrifos-méthyl, cyfluthrine, cyperméthrine, deltaméthrine, diazinon, dichlorvos, diméthoate, éthropophos, fénithrothion, fenvalerate+esfenvalerate, hexaconazole, lambda-cyhalothrine, malathion, perméthrine, phosalone, phosmet, tau-fluvalinate, tébuconazole, téméphos, tétraconazole, tolclophos-méthyl, trichlorfon.

L'analyse de ces extraits permet de déterminer la quantité de pesticides accumulés par masse de phase et d'exprimer ainsi une concentration de pesticides en ng/g de phase POCIS. Elle permet également par la détermination de la quantité de PRC (DIA d_5) restant dans les POCIS après exposition, de déterminer la constante de désorption k_e des PRC *in situ*:

$$k_{ePRC\ in\ situ} = -(\ln(m_{d\ PRC}/m_{d0\ PRC}))/t$$

où
ke : constante de désorption
$m_{d\ PRC}$: masse de PRC après exposition des POCIS
$m_{d0\ PRC}$: masse de PRC avant exposition des POCIS
t : temps d'exposition

L'obtention de cette constante pour les POCIS exposés permet ensuite, par comparaison aux Rs et aux k_e obtenus durant les calibrations en laboratoire, de déterminer un $Rs_{in\ situ}$. Ce $Rs_{in\ situ}$ déterminé pour les conditions d'exposition *in situ* permet de déterminer la concentration en analytes dans le milieu (TWAC : concentration moyenne au cours de la durée d'exposition du POCIS):

$$[C_{eau}] = [C_{POCIS}] \ / \ (Rs_{insitu} \times t)$$

où
$[C_{pocis}]$: Concentration dans le POCIS ($ng.g^{-1}$)
$[C_{eau}]$: Concentration moyenne dans l'eau pendant la période d'exposition ($ng.L^{-1}$) ou (TWAC)
Rs_{insitu} : Taux d'échantillonnage ($L.\ j^{-1}.g^{-1[C2]}$)
t : Temps (j)

3.2.2. Résultats

Il est à noter que suite aux opérations de récupération de la phase des POCIS en laboratoire, il a été constaté que la phase issue des disques Cu est colorée en bleue et que ces phases ont été plus longues à sécher.

Sur la figure 7 est présentée la somme de l'ensemble des pesticides mesurés sur chaque site et pour chaque dispositif (cage et disques Inox et/ou Cu) exprimée en ng/L. Ces données indiquent que les concentrations calculées sont plus élevées dans les POCIS en

Inox quelque soit le type de cage utilisé (sauf au Lazaret où les POCIS en cuivre et en Inox placés dans la cage en Inox indiquent des niveaux comparables). Mais, aucune différence significative entre les concentrations n'est mise en évidence par le test de Kruskall-Wallis ($p>0,05$). Par ailleurs, il est à noter que la somme des concentrations en pesticides quantifiés est significativement plus élevée à Thau qu'au Lazaret.

La figure 8 montre que la quantité des différents des composés quantitativement les plus importants sont du même ordre à Thau quelque soit la combinaison de matériaux utilisée (Kruskall-Wallis $p>0,05$), tandis qu'au Lazaret les systèmes cage Inox/anneaux Cu s'individualisent par des concentrations plus élevées notamment en ce qui concerne le DMST et le DMSA.
Les concentrations des pesticides les plus abondants mesurés à pour chaque site (Fig. 9) indiquent les mêmes tendances que celles mises en évidence avec la somme des pesticides (Fig. 7). Il est à noter que de nombreux composés sont présents à des concentrations très faibles, proches des limites de détection (LD): à Thau 42 composés sont présents à des concentrations comprises entre 10 ng/L et LD; au Lazaret 18 composés sont à des concentrations comprises entre 1 ng/L et LD. Sur les 98 composés recherchés, 42(62) sont à des niveaux inférieurs aux LD à Thau(Lazaret). Ces composés n'ont pas été représentés sur les figures. La liste de tous les composés mesurés est présentée dans l'annexe 1.

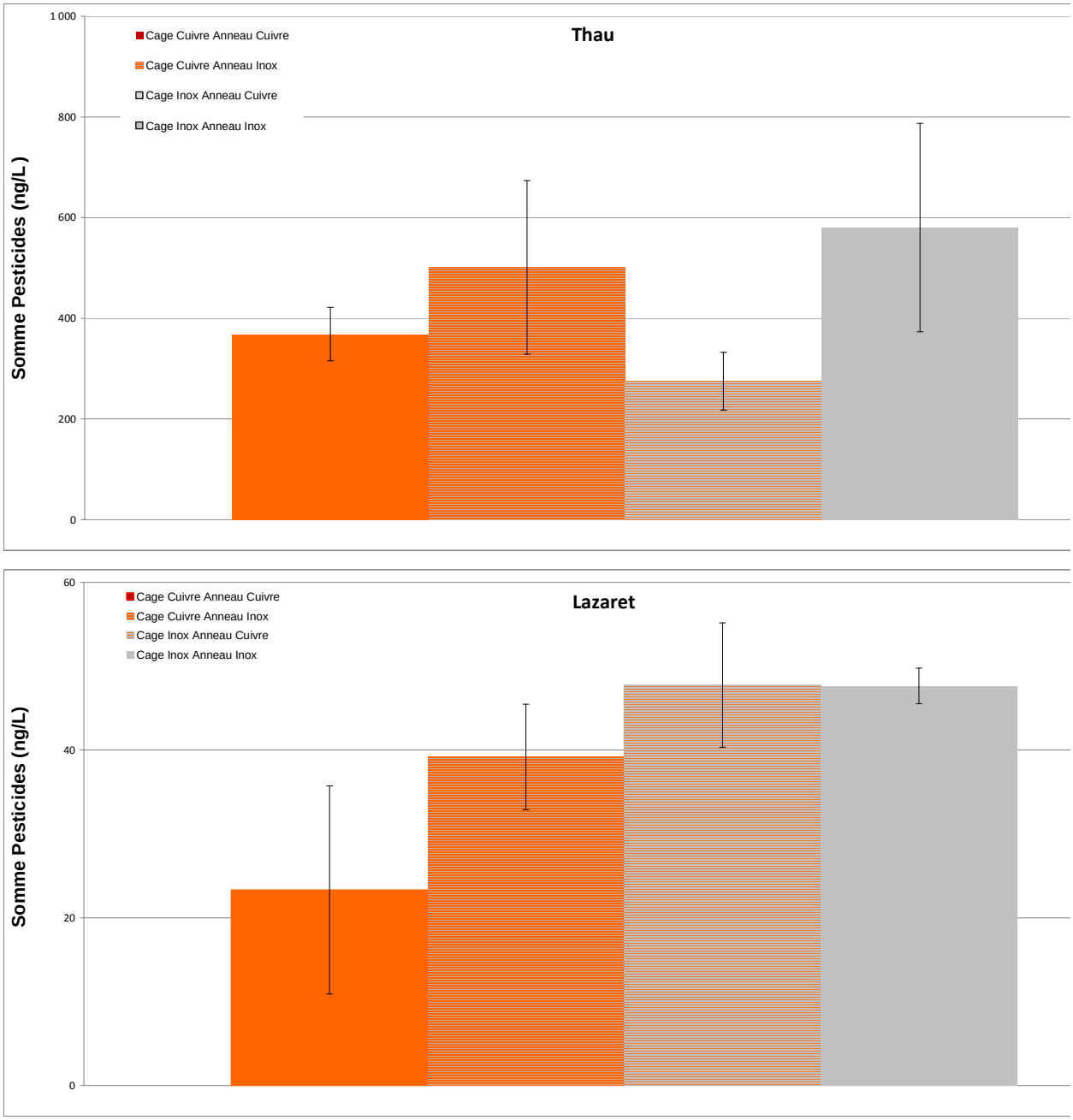


Figure 7: Comparaison de la somme de l'ensemble des pesticides quantifiés par la technique POCIS en fonction des systèmes utilisés sur les sites de Thau et du Lazaret.

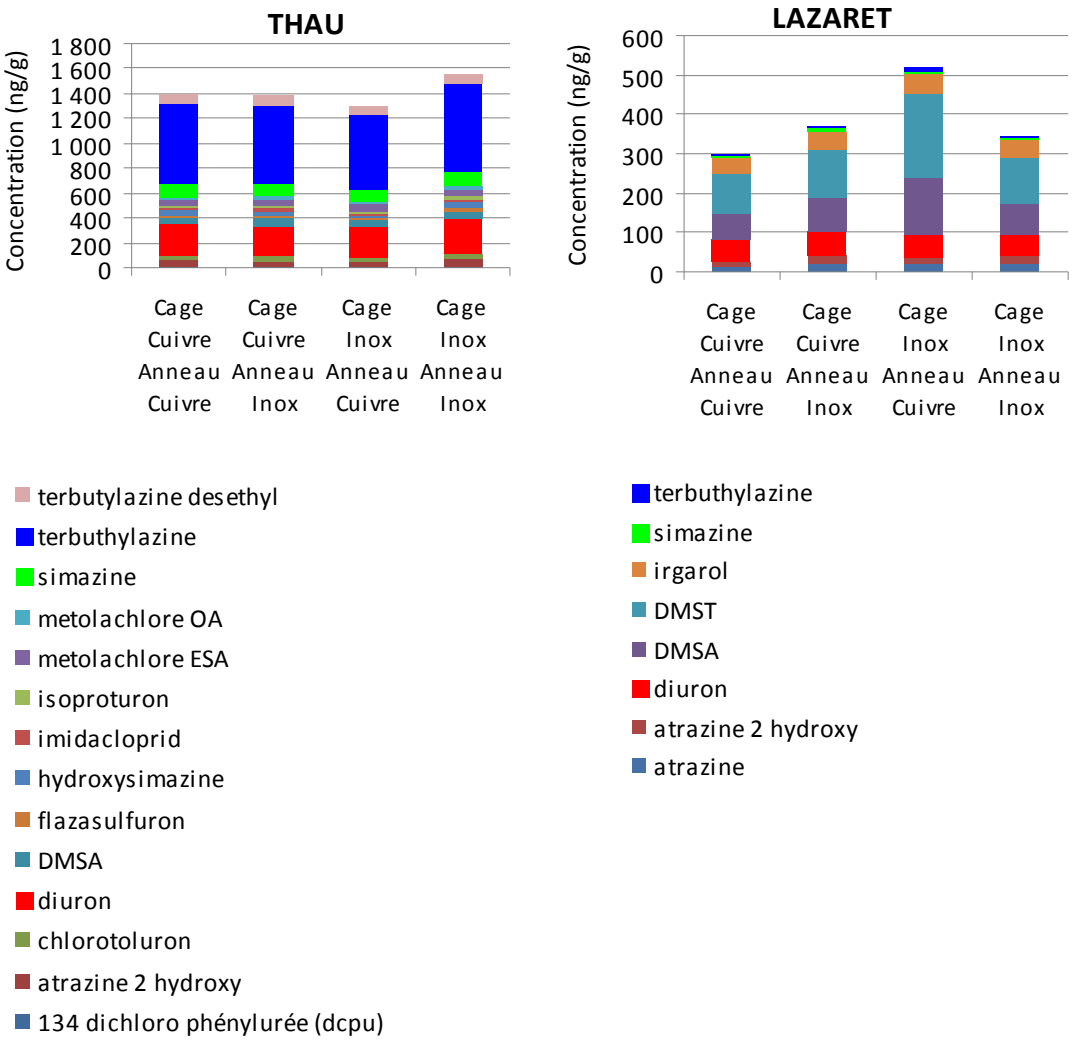


Figure 8: Concentrations mesurées dans les POCIS: seuls sont représentés les composés quantitativement les plus représentés (dont les concentrations rapportées à la masse d'eau sont supérieures à 10 ng/L pour Thau et 1 ng/L pour le Lazaret).

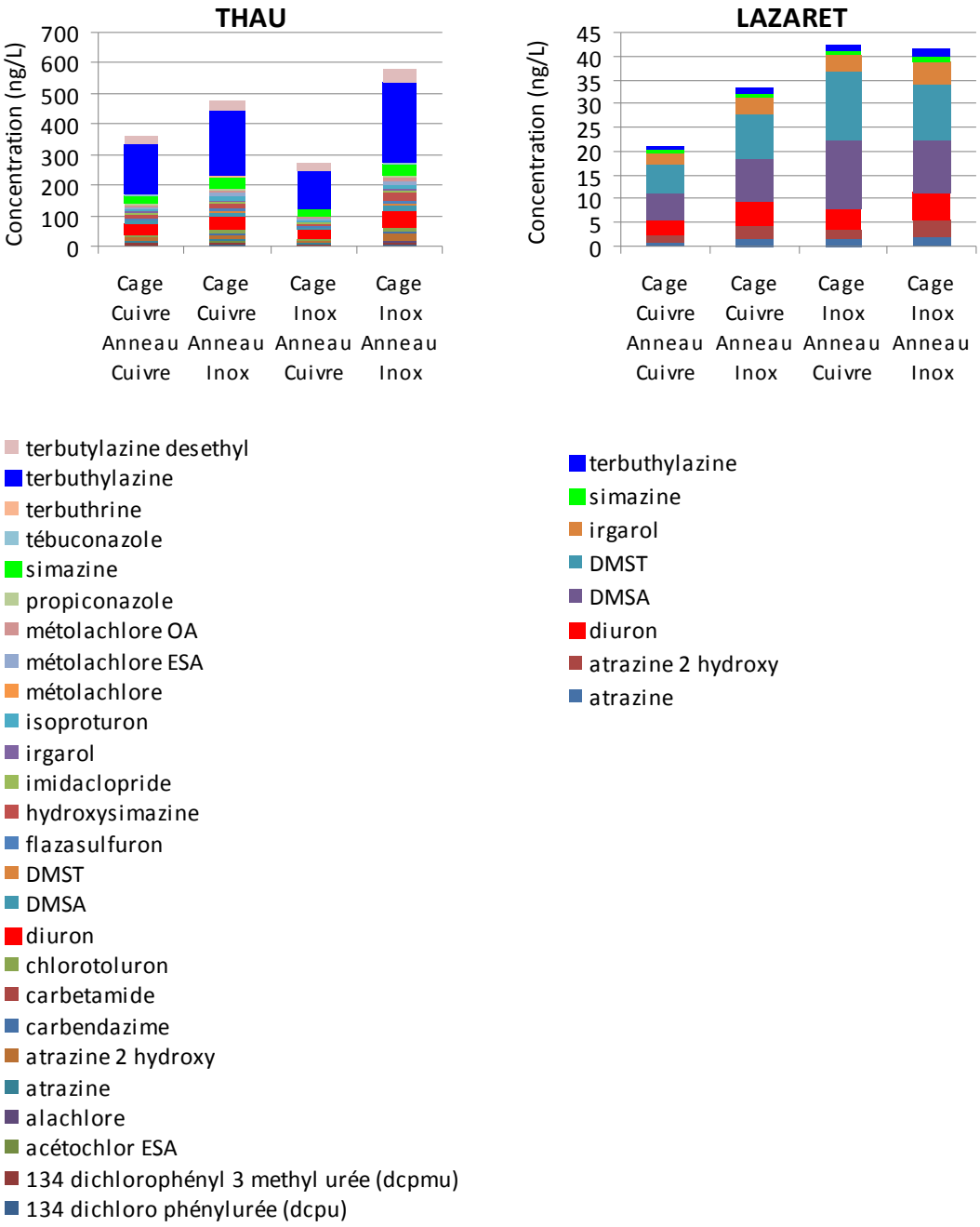


Figure 9: Composés mesurés à Thau et au Lazaret dont les concentrations sont supérieures à 1 ng/L.

A titre d'exemple, le Diuron est choisi pour illustrer les résultats obtenus (Fig. 10). Les concentrations mesurées dans les POCIS issus des différentes combinaisons de matériaux sont relativement comparables pour chacun des deux sites (Kruskall Wallis p >0,05). Il faut noter la variabilité importante (coefficient de variation de l'ordre de 42 %) des mesures faites au Lazaret dans le système cage Cu/anneaux Cu.
Les taux d'échantillonnage mesurés (Rs) sont toujours plus élevés pour les disques en Cu quelque soit le type de cage ou le site, ce qui semble confirmer l'effet antifouling du cuivre. Ces POCIS moins impactées par le fouling se caractérisent par un taux d'échantillonnage plus élevé qui explique que les concentrations soient plus faibles pour les POCIS en cuivre, indépendamment de la cage utilisée.
Les concentrations moyennes calculées dans l'eau (ng/L) sont à prendre avec précaution car il est vraisemblable que pour les pesticides dosés, les POCIS exposés plus de 40 jours ne soient plus dans leur phase intégrative mais plutôt en phase curvilinéaire voire en phase d'équilibre. Ce temps d'exposition pourrait expliquer la relative homogénéité des quantités accumulées dans tous les POCIS. La seule information interprétable et discutable est le Rs qui est plus important pour les POCIS en Cu par rapport à ceux en inox et qui indique que le moindre développement du fouling due à l'utilisation de Cuivre, améliore l'absorption des composés par le POCIS.

3.2.3. Conclusions

L'ensemble des résultats met en évidence que l'utilisation du cuivre comme matériau constitutif des systèmes POCIS recule le délai d'apparition du fouling. Il semble que c'est surtout la nature des disques qui réduit l'apparition des salissures. Cet effet est aussi visible quantitativement, les taux d'échantillonnage étant plus élevés avec les disques en Cu. Par contre, la nature de la cage semble avoir relativement peu d'importance.

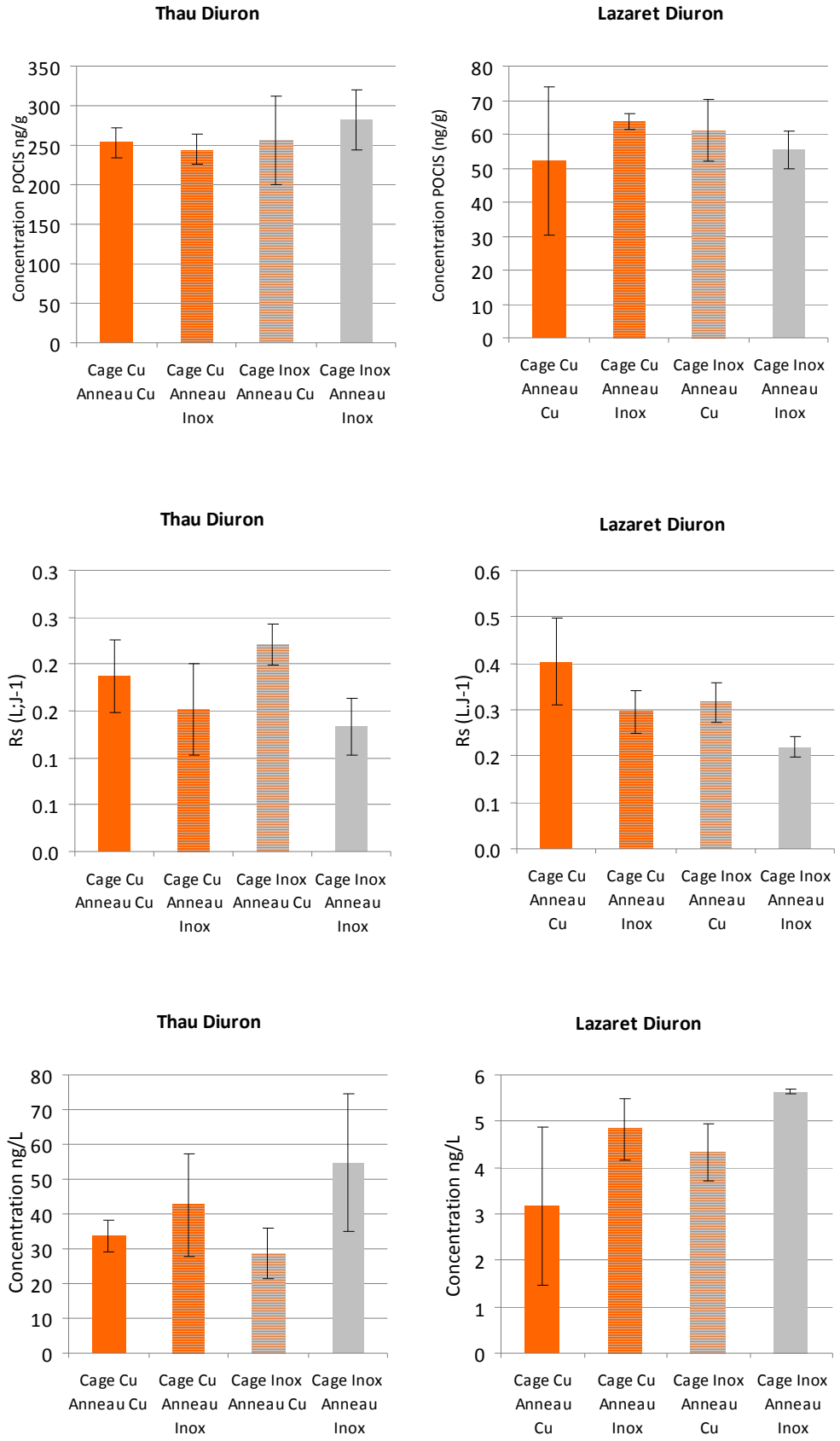


Figure 10: Le diuron à Thau et au Lazaret- Valeurs du taux d'échantillonnage (Rs) déterminées in situ.

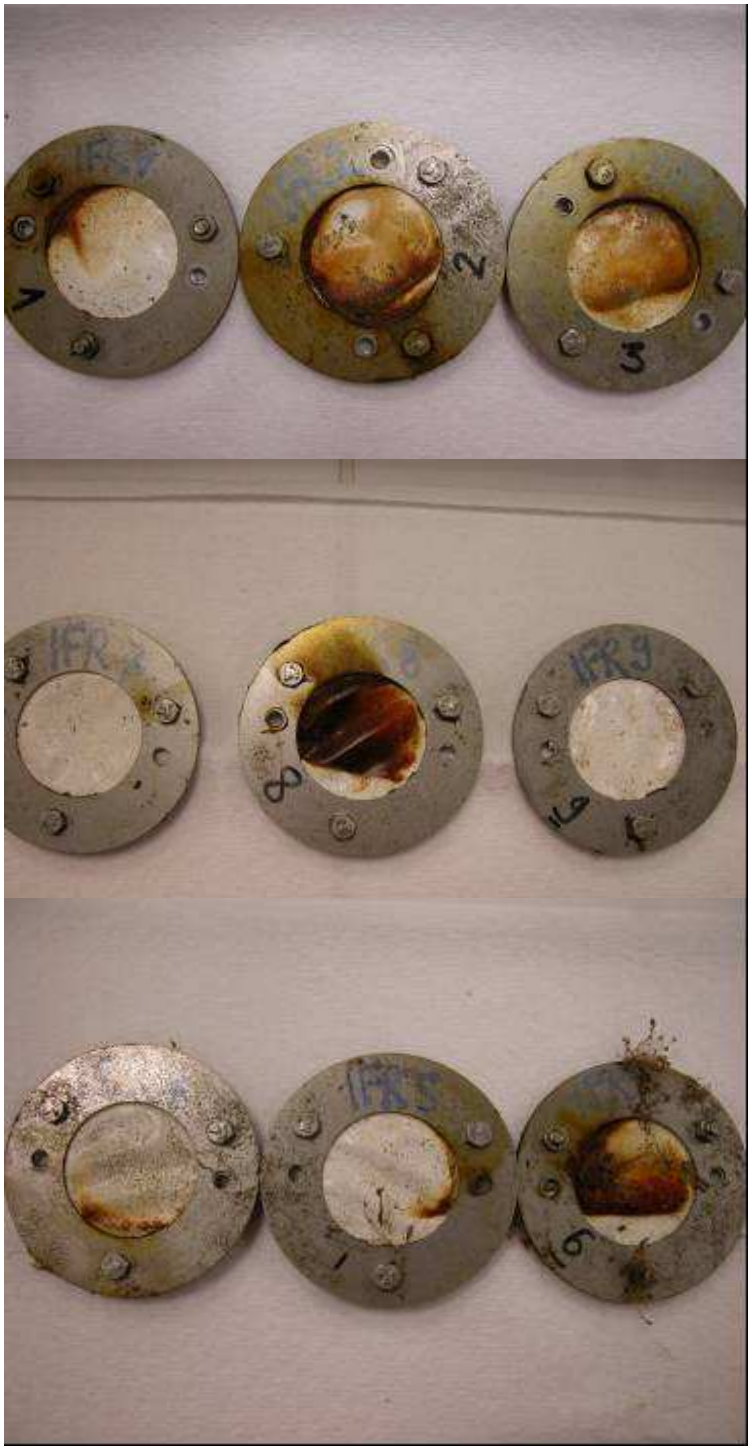
3.3. Influence de l'hydrodynamique sur le taux d'échantillonnage

L'influence des variations des conditions hydrodynamiques au voisinage des POCIS a été testée grâce au développement d'un système d'agitation en continu *in situ*. Ce système permet d'obtenir un taux d'échantillonnage que l'on considérera constant grâce au maintien d'une vitesse de rotation des POCIS constante durant toute la durée d'exposition (Fig. 11). La durée d'immersion a été de 26 jours dans le canal des Quilles (Station Ifremer de Sète). Les vitesses de rotation ont été réglées à 20 et 60 tours/mn pour les 2 cages fixées sur le système de rotation. De plus, une cage a été immergée à proximité sans système de rotation, elle a été soumise uniquement aux variations des conditions d'agitation du milieu pendant la durée de l'expérience.

Figure 11: Expérience d'agitation *in situ*.

3.3.1. Résultats

L'aspect des disques POCIS récupérés après l'immersion et avant analyse (Fig. 12) indique que l'état général de la surface des membranes est meilleur pour les POCIS qui ont été agités. Paradoxalement, la surface des membranes agitées à 20 tr/mn semble plus "propre" que la surface de celles qui ont été agitées à 60 tr/mn. Globalement, les POCIS sont peu foulés, les traces rougeâtres observables sont essentiellement dues à de l'oxydation plutôt qu'à du colmatage par des particules ou des matières vivantes.



Pas d'agitation

20 tr/mn

60 tr/mn

Figure 12: Aspect des disques POCIS après récupération

Les analyses de pesticides dans les POCIS vont permettre d'évaluer s'il existe une différence quantitative entre ces POCIS soumis à des niveaux d'agitation différents.

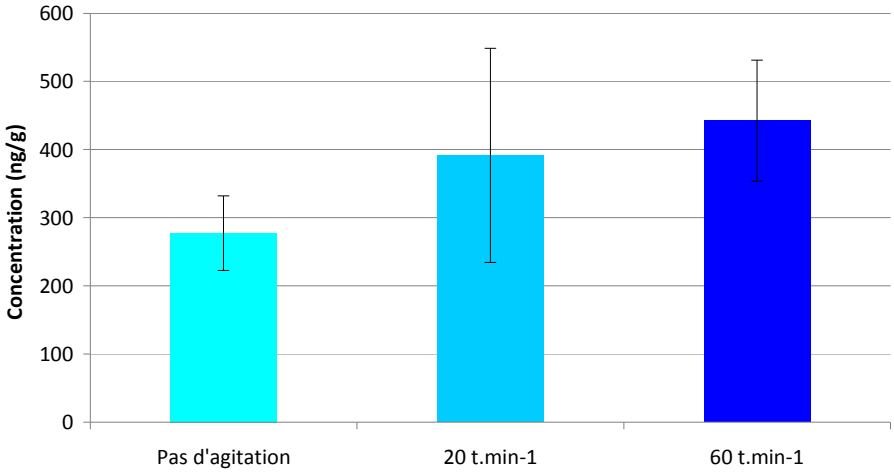


Figure 13: Somme des concentrations des pesticides mesurés dans les POCIS (28 composés détectés sur les 98 analysés).

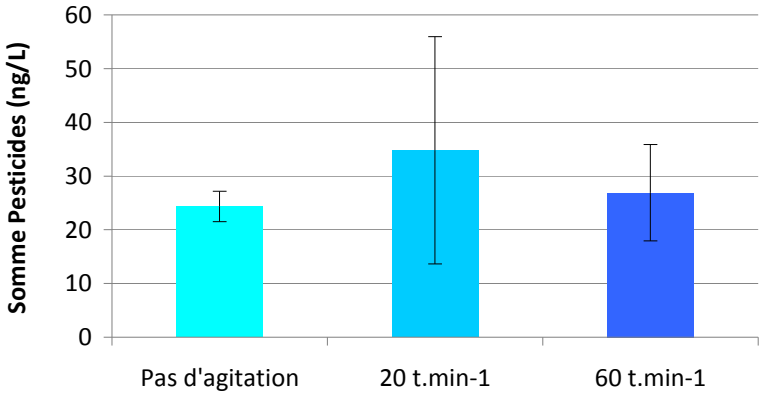


Figure 14: Comparaison de la somme des concentrations dans l'eau (calculées à partir des concentrations dans les POCIS et des taux d'échantillonnage) de l'ensemble des pesticides quantifiés par la technique POCIS en fonction de l'agitation des cages.

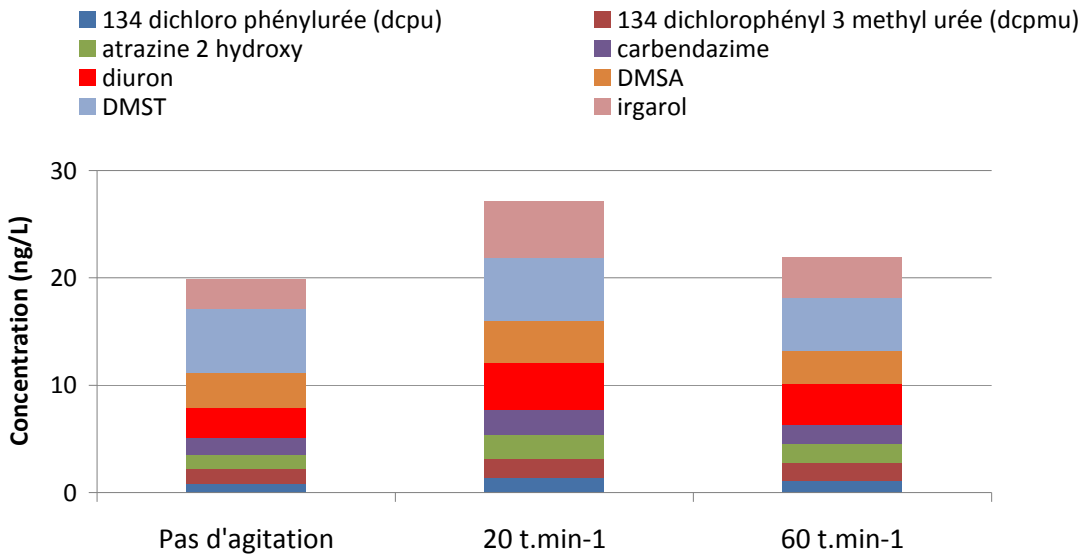


Figure 15: Concentrations calculées des différents composés mesurés (concentrations supérieures à 1 ng/l) en fonction de la vitesse de rotation.

La figure 13 présente la somme de l'ensemble des pesticides mesurés pour chaque vitesse de rotation. Les données montrent que la quantité mesurée dans les POCIS augmente avec la vitesse de rotation (Kruskall –Wallis $p<0,05$). Il est à noter une variabilité relativement importante pour les POCIS correspondants à la vitesse de 20 tr/mn.

La figure 14 montre que les POCIS agités à 20 tr/mn se caractérisent une variabilité plus importante, mais aucune différence significative de niveau de concentration n'a pu être mise en évidence entre les différentes conditions.

Les concentrations des différents composés mesurés (Fig. 15) sont du même ordre pour les POCIS non agités et agités à 60 tr/mn (Krsukall wallis $p>0,05$), tandis que les POCIS agitées à 20 tr/mn s'individualisent par des concentrations en irgarol, diuron et atrazine 2 hydroxy plus importantes.

Les concentrations en diuron mesurées dans les disques agités à des vitesses différentes (Fig. 14) mettent en évidence que la quantité de composés accumulés (en ng/g de phase) augmente avec la vitesse d'agitation. L'évolution des taux d'échantillonnage (Rs) en fonction de la vitesse d'agitation est aussi très cohérente (à noter néanmoins un coefficient de variation plus important sur la condition à 20 tr/mn).
En ce qui concerne les concentrations dans l'eau calculées, l'ordre de grandeur est le même mais il y a aussi une forte variabilité entre les 3 réplicats sur la condition 20 tr/mn. Différentes hypothèses (problème de rotation, vortex...) pourraient expliquer ce résultat que l'on peut aussi constater visuellement (la surface des membranes agitées à 20 tr/mn semble plus "propre" que la surface de celles qui ont été agitées à 60 tr/mn).

3.3.2. Conclusions

Les données obtenues ont permis de mettre en évidence l'importance de l'agitation du milieu et de sa prise en compte dans les calculs de concentration. Les résultats montrent que pour 3 systèmes POCIS immergés dans le même milieu, mais avec des vitesses d'agitation différentes, les différences de concentration calculées pour la somme des pesticides ne sont pas significatives (Fig. 14). L'examen des disques après exposition

n'indique pas de différence très nette en ce qui concerne l'importance du fouling en fonction de la vitesse de rotation.

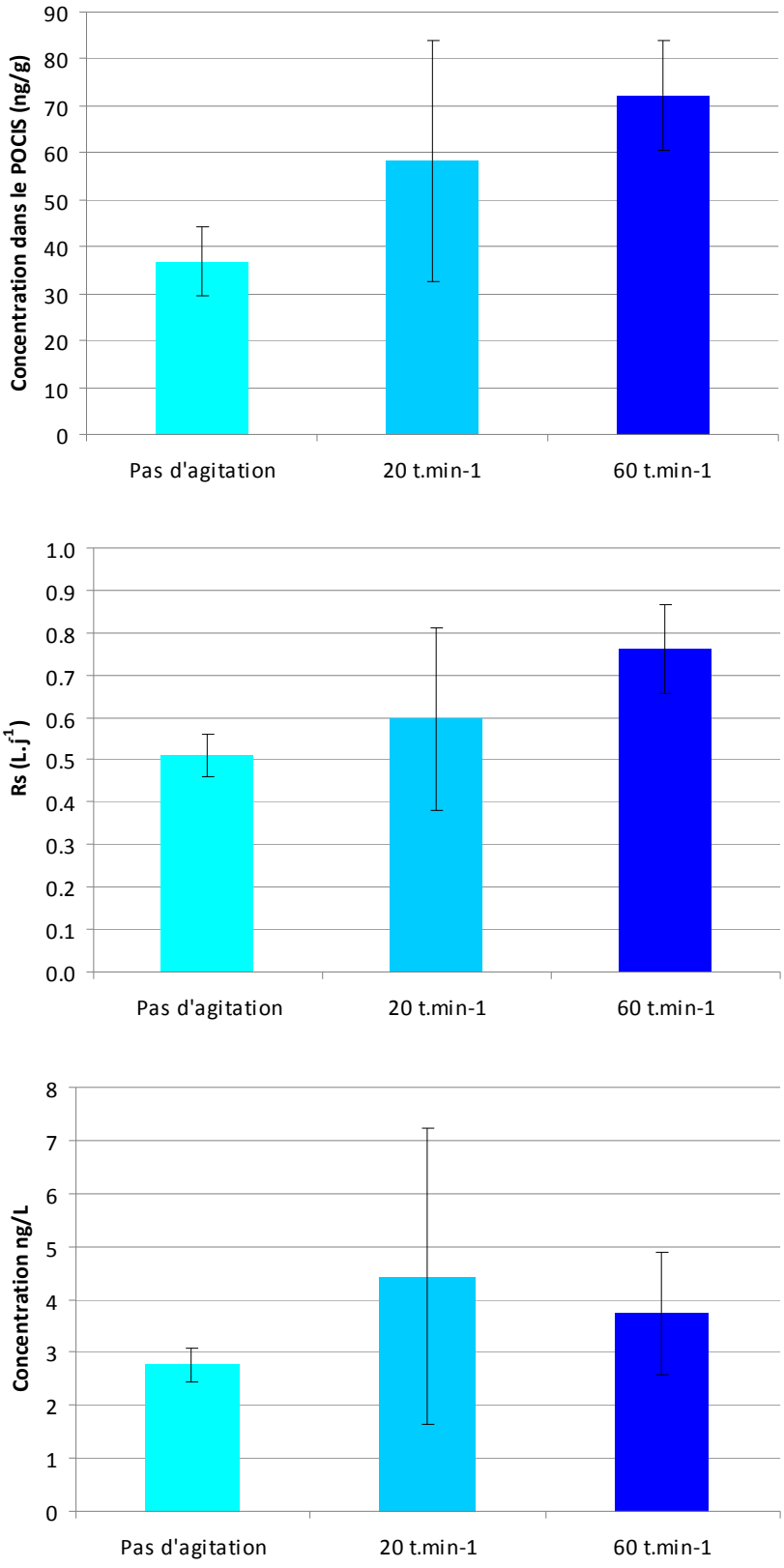


Figure 16: Concentration en diuron et valeurs du taux d'échantillonnage (Rs) déterminées in situ.

La rotation des POCIS semble aussi améliorer le taux d'échantillonnage (Fig. 16) et la correction des concentrations exprimées en ng/g par les Rs_{insitu} calculés par l'approche PRC permet d'intégrer les différences de taux d'échantillonnage dues aux conditions du milieu.

Ce système devrait contribuer à une meilleure calibration de la technique POCIS directement sur le terrain, permettant de réaliser des calibrations dans des conditions environnementales "réalistes" en termes d'hydrodynamique, de conditions physico-chimiques, de fouling, et de faire ainsi progresser le potentiel des outils d'échantillonnage passif.

4. Amélioration des supports POCIS et DGT

4.1. Développement d'une nouvelle géométrie de cage POCIS

Le volume relativement important des cages POCIS (en particulier la version où l'on peut placer 2 supports de disques), ainsi que les différentes opérations de préparation avant la mise en œuvre et après la récupération, peuvent poser des problèmes, notamment pour les campagnes à réaliser dans les DOMs pour lesquelles il faut optimiser les coûts en réduisant le volume et le poids des colis, mais aussi faciliter toutes les opérations à réaliser sur place.

Avant les campagnes, les disques POCIS (congelés avant le départ et transportés dans une boite isotherme + blocs de froid), le support des disques et les cages POCIS sont livrés non assemblés. Les disques POCIS sont emballés individuellement dans du papier alu pyrolisé et enveloppés dans du "papier bulle" (membranes très fragiles).
Avant la mise à l'eau, le montage des disques sur le support (3 par support) doit se faire dans un endroit "propre", sur du papier alu, avec des gants latex non poudrés. Le montage sur les supports se fait grâce à des boulons et écrous "propres" qui doivent être serrés avec une clé "propre".
Les disques fixés sur le support sont ensuite remis dans la cage qui doit être refermée, complètement, emballée dans du papier alu, mise dans un sac plastique et conservée au congélateur jusqu'au départ sur le terrain. Entre le départ du laboratoire et la mise à l'eau, les cages doivent être placées dans une glacière.

Après la récupération des POCIS, il faut, dans des conditions "propres", ouvrir la cage, rincer les disques, les démonter et les re-conditionner pour le retour au laboratoire d'analyse (les envelopper individuellement dans du papier alu pyrolisé, les remettre dans les enveloppes "papier bulle " et les stocker au congélateur jusqu'au moment de l'expédition qui devra se faire en boite isotherme + blocs de froid).

La nouvelle géométrie de cage (Fig. 17) permet de réduire considérablement les volumes à transporter et à stocker. De plus, toutes les opérations de conditionnement sont simplifiées et les risques de contamination au cours de ces opérations sont limités (car plus rapides et moins de manipulations):

- A l'envoi: les POCIS peuvent être envoyés dans la cage (le tout congelé et emballé uniquement dans du papier alu).
- A la réception: stockage directement dans le congélateur jusqu'à la mise en place sur le terrain.
- Avant mise en place: pas de fixation sur support; à placer directement dans glacière de terrain avant le départ.
- Après la récupération: Ouverture au "labo", pas de démontage des disques, rinçage, remise dans le support, emballage dans du papier alu, congélation jusqu'au retour.
- Expédition: remise de l'ensemble dans les boites isothermes.

De plus, ces nouveaux dispositifs ont été réalisés en cuivre, matériau qui d'après les premiers résultats semble limiter le fouling et augmenter les taux d'échantillonnage.
Des essais avec ces cages doivent être réalisés au cours de l'année 2012.

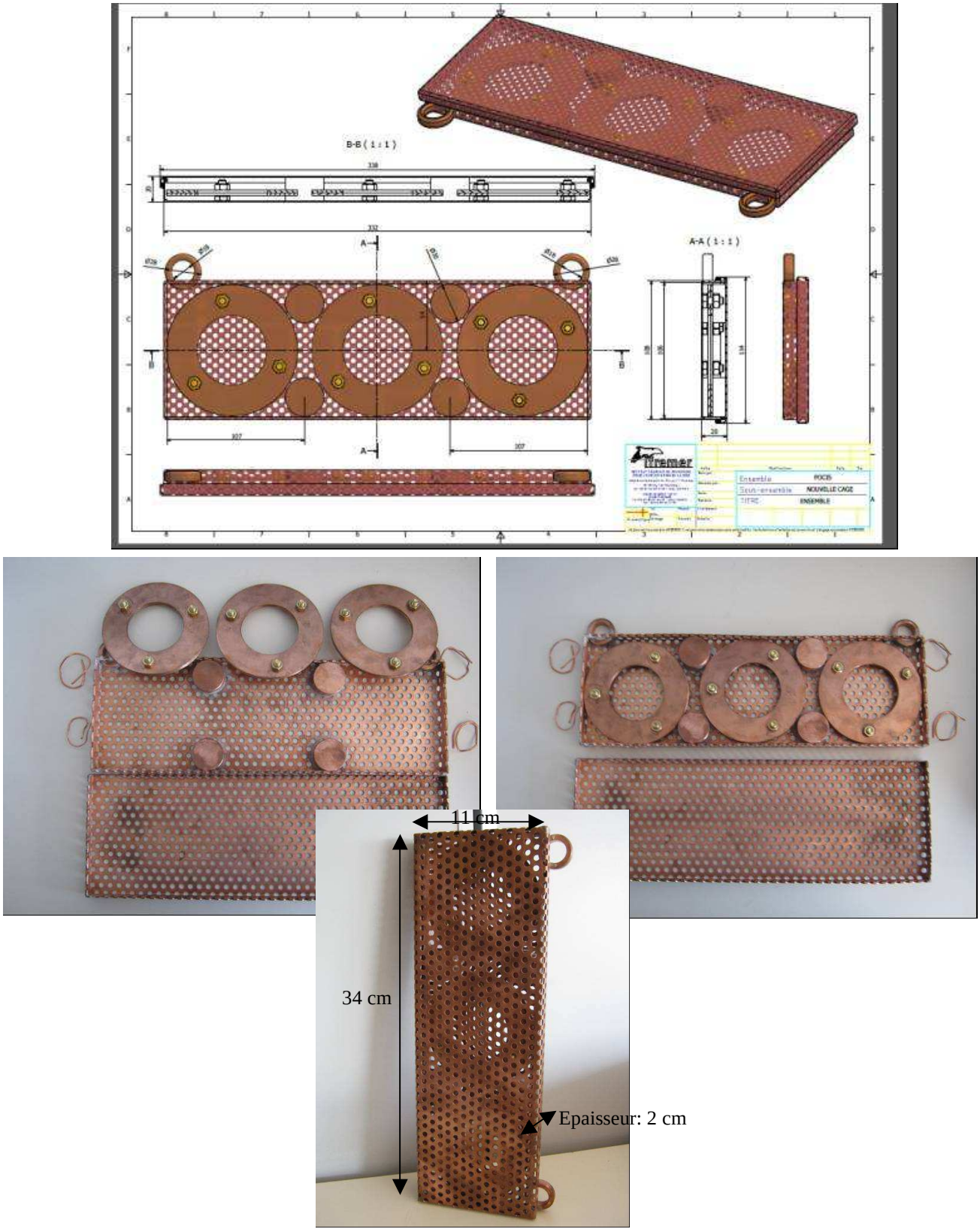
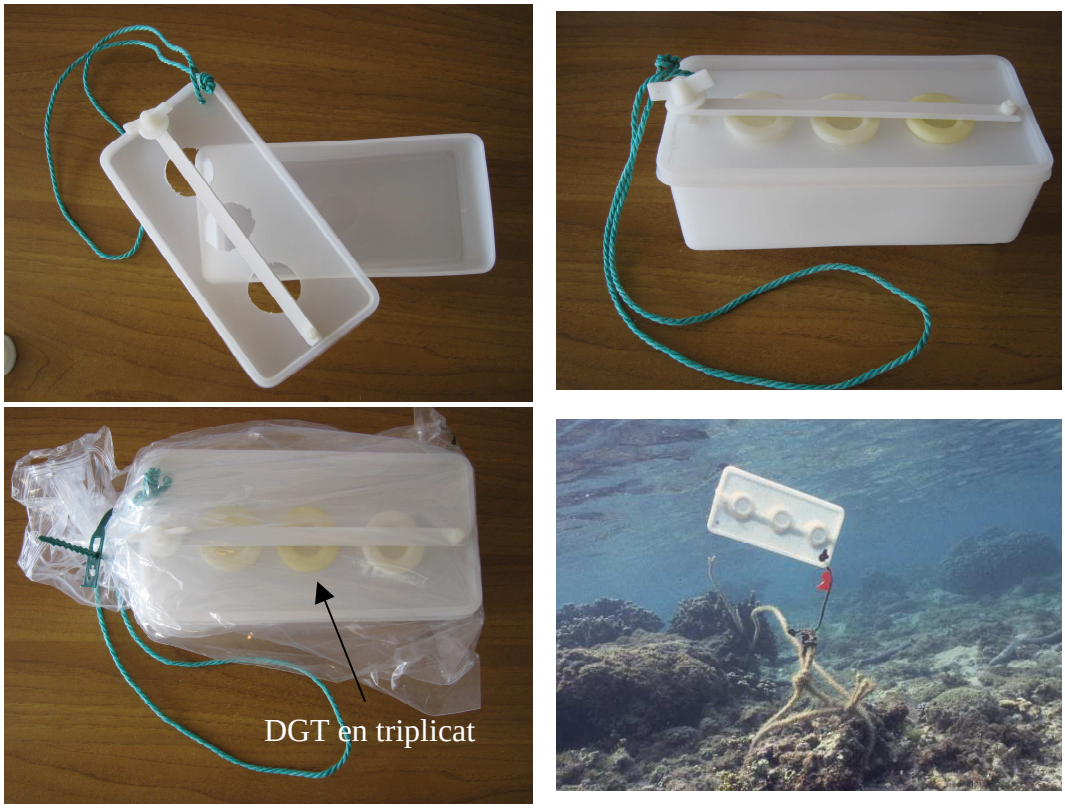


Figure 17: Système POCIS "nouvelle géométrie".

4.2. Support de transport et de mise en place DGT

Afin de pouvoir gagner du temps sur les opérations de mise à l'eau et de récupération des DGT, ainsi que pour limiter les risques de contamination sur le terrain ou lors du transport, un système simple et peu coûteux a été développé (Fig. 18). Ce système ("boite support DGT") permet: un montage rapide des DGT sur le support; une fixation simplifiée sur tout type de ligne de mouillage; une mise à l'eau et une récupération facile; un mode de transport compact, à l'abri des contaminations.

Figure



5. DGT "spécial Hg": contribution au choix des DGT, des méthodes d'élution et des techniques d'analyse

Le mercure est un des éléments métalliques (avec Cd, Ni et Pb) qui fait partie des substances prioritaires à mesurer dans le cadre de la DCE (Directive Cadre Européenne sur l'Eau). Comme la plupart des métaux présents dans l'environnement marin, le mercure est présent à des niveaux très faibles (traces). La mesure des concentrations de ce métal dans la colonne d'eau requiert la mise en oeuvre de techniques d'échantillonnage "ultra-propres", de filtration et d'analyse complexes.
La technique d'échantillonnage passif DGT (Diffusive Gradient in Thin film= gradient de diffusion en couche mince), mise au point par Davison et Zhang (1994) pourrait faciliter, notamment dans le cadre de mise en oeuvre de la DCE, une partie de ces opérations. L'utilisation des échantillonneurs passifs permet, pour certains composés, de les extraire et de les concentrer *in situ* réduisant ainsi une partie des difficultés et de coût, liées à l'analyse des contaminants à l'état de traces. Ces techniques ont contribué à l'obtention de données sur la contamination des masses d'eau lors d'opérations à "grande échelle" (Gonzalez *et al*, 2009a; b; c; 2010; 2011a; b; c; Turquet *et al*, 2010).

L'approche DGT est largement utilisée pour des mesures in situ de la concentration de nombreux métaux traces (Al, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Pb, Mn, Zn...) dans des environnements très différents: eaux naturelles, les sols et les sédiments. Mais la technique DGT "classique" ne permet pas de mesurer de façon satisfaisante Hg. D'une part, du fait des très faibles concentrations de Hg "dissous" rencontrées habituellement dans les eaux marines (< 1ng/L), l'utilisation de DGT requiert des temps d'exposition importants (alors que pour les autres métaux "l'équilibre" peut être atteint en quelques heures). D'autre part, quelques études montrent que le gel de diffusion utilisé dans les DGT "classiques" (gel en polyacrylamide) peut fixer une partie plus ou moins importante du mercure sous forme Hg II (Bicak and Sherrington, 1995; Docekalova and Divis, 2005), ainsi le mercure fixé sur la résine ne sera pas directement proportionnel à la concentration en Hg "dissous" dans la colonne d'eau (et au temps d'immersion).
Il est à noter que dans ces travaux (Docekalova and Divis, 2005), la technique DGT a été testée avec un gel classique (polyacrylamide) et un gel agarose (qui ne devrait pas "retenir" de Hg II) en laboratoire dans des conditions très éloignées de l'eau de mer ($NaNO_3$ 0.01 M) avec des ajouts de Hg très importants (100 µg/l) et que les deux techniques n'ont pas été comparées sur le terrain. Cette étude avait été motivée par celle de Bicak et Sherrington (1995) qui préconisaient d'utiliser (dans un but "d'épuration" ou comme concentrateur sélectif) des gels de polyacrylamide pour adsorber Hg(II) dans des conditions qui sont aussi assez éloignées du milieu marin (eau distillée, ajout de Hg sous forme $Hg(CH_3CO_2)_2$ à des concentrations très élevées et un pH de 6.4).
En 2005, les mêmes auteurs (Divis *et al*, 2005), dans le but déterminer opérationnellement la spéciation de Hg, ont utilisé la technique DGT dans des sédiments de rivière et marins sous deux formes: en remplaçant le gel classique par un gel agarose et avec une résine classique (Chelex 100 pour extraire les espèces les plus "labiles") et une résine Sphéron-thiol (qui pourrait extraire et concentrer toutes les espèces même celles sous associées à des ligands forts comme les thiols par exemple). Ce type de DGT "spécial Hg" (gel en agarose et résine Sphéron-thiol) semble être le plus adapté (Divis *et al*, 2010).
Il existe assez peu de références sur l'utilisation des DGT pour Hg, les études sont peu nombreuses et peu comparables (DGT constitués de différents type de gels ou résines, différentes méthodes d'élution et d'analyse). Il ne semble pas encore y avoir de véritable consensus sur une méthodologie donnée. Le tableau 1 compile les différentes études réalisées en fonction du type de DGT utilisé, des méthodes d'élution et d'analyse.

Tableau 1: Travaux ayant testé différents DGT Hg, différentes techniques d'élution et d'analyse

	Gel diffusion	Résine	Elution	Analyse
Docekalova and Divis 2005 (eau de rivière)	- Agarose	- Chelex-100 - Spheron-Thiol	Pas d'élution (analyse par voie "sèche")	Spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS) AMA 254 (Advance Mercury Analyzer, Altec)
Divis *et al* 2005 (eaux interstitielles: sédiments marins et de rivière)	- Agarose	- Chelex-100 - Spheron-Thiol	Pas d'élution (analyse par voie "sèche")	Spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS) AMA 254 (Advance Mercury Analyzer, Altec)
Clarisse and Hintelmann 2006 (laboratoire, eau de mer)	- Polyacrylamide	- 3 mercapto-propyl (gel de silice fonctionnalisé)	solution thiourée/HCl (à 1.3 mM dans 0,1 M HCl)	Ethylation et mesure par GC-ICP-MS
Cattani *et al* 2008 (laboratoire, sols)	- Agarose	- Chelex-100 - Spheron-Thiol	Pas d'élution (analyse par voie "sèche")	Spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS) AMA 254 (Advance Mercury Analyzer, Altec)
Cattani *et al* 2009 (laboratoire, sols)	- Agarose	- Spheron-Thiol	Pas d'élution (analyse par voie "sèche")	Spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS) AMA 254 (Advance Mercury Analyzer, Altec)
Best *et al* 2009 (eau de mer et sédiments)	- Polyacrylamide	- 3 mercapto-propyl (gel de silice fonctionnalisé)	Solution thiourée/HCl (à 0,005% dans 0,1 M HCl).	Analyse MMHg par ethylation et mesure par GC-ICP-MS
Divis *et al* 2009 (laboratoire et eau de rivière)	- Agarose	- Duolite GT73 - résine Iontosorb AV modifiée avec imidazole	Pas d'élution (analyse par voie "sèche")	Spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS) AMA 254 (Advance Mercury Analyzer, Altec)
Clarisse *et al* 2009 (laboratoire et lac)	- Polyacrylamide	- 3 mercapto-propyl (gel de silice fonctionnalisé)	Solution thiourée/HCl (1.3 mM dans 0,1 M HCl)	Analyse MMHg par ethylation et mesure par GC-ICP-MS
Divis *et al* 2010 (laboratoire)	- Agarose	- Chelex 100 - Duolite GT73 - Spheron Thiol - résine Iontosorb AV modifiée avec imidazole	Pas d'élution (analyse par voie "sèche")	Spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS) AMA 254 (Advance Mercury Analyzer, Altec)
Clarisse *et al* 2010 (sediments marins)	- Polyacrylamide	- 3 mercapto-propyl (gel de silice fonctionnalisé)	Solution thiourée/HCl (1.3 mM dans 0,1 M HCl)	Analyse MMHg par ethylation et mesure par GC-ICP-MS

Suite Tableau 1

Chess *et al* 2010 (laboratoire)	- Agarose	- Ambersep GT74 - Lewatit Monoplus TP-214 - 3 mercapto-propyl (gel de silice fonctionnalisé)	- HCl concentré	- Spectrométrie de fluorescence atomique à vapeur froide (CVAFS)
Fernández-Gómez *et al* 2011 (laboratoire)	- Agarose - Agarose 0.5 mm d'épaisseur (avec résine 3MFSG) - Polyacrylamide 0.4 mm d'épaisseur (avec résine 3MFSG)	- Spheron-Thiol - 3 mercapto-propyl (gel de silice fonctionnalisé): 3MFSG	- HCl concentré - Eau régale (1:3 HNO_3:HCl) - 7:3 HNO_3cc:H_2SO_4cc	Spectrométrie de fluorescence atomique à vapeur froide (CVAFS)
Fernández-Gómez *et al* 2011 (laboratoire et eau de rivière)	- Agarose	- Spheron-Thiol	Pas d'élution (analyse par voie "sèche")	Spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS) AMA 254 (Advance Mercury Analyzer, Altec)
Gao *et al* 2011 (laboratoire)	- Agarose	- 3 mercapto-propyl fonctionnalisé SBA-15 -3 mercapto-propyl fonctionnalisé ethenylene - Sumichelate Q10R - 3 mercapto-propyl (gel de silice fonctionnalisé) - Chelex 100	Thiourée 5%	Méthode EPA 1631 Spectrométrie de fluorescence atomique à vapeur froide (CVAFS)
Clarisse *et al* 2012 (laboratoire)	- Polyacrylamide	- 3 mercapto-propyl (gel de silice fonctionnalisé)	Solution thiourée/HCl (1.3 mM dans 0,1 M HCl)	Analyse MMHg par ethylation et mesure par GC-ICP-MS

Les différents travaux réalisés montrent que dans la plupart des cas se sont des DGT constitués d'un gel d'agarose et d'une résine Chelex 100 ou Sphéron-thiol qui sont utilisés. Il est à noter que dans un nombre relativement important d'études, des gels en polyacrylamide sont utilisés malgré les réserves émises par certains travaux sur l'utilisation de ce type de gel qui pourrait fixer une partie plus ou moins importante du mercure sous forme Hg II (Bicak and Sherrington, 1995; Docekalova and Divis, 2005).

A l'heure actuelle, les DGT Hg "prêts à l'emploi" les plus faciles à obtenir sont ceux qui sont constitués d'un gel agarose et d'une résine Sphéron-thiol, mais de possibles problèmes d'approvisionnement de ce type de résine ont motivé différentes études avec des résines différentes. L'utilisation de résines différentes est aussi une voie intéressante pour évaluer la spéciation de Hg dissous (Docekalova and Divis 2005; Divis *et al* 2005; Clarisse and Hintelmann 2006; Cattani *et al* 2008).

Du fait qu'il existe assez peu d'applications terrain de la technique DGT Hg et qu'il n'y a pas de réel consensus sur le type de DGT, les techniques d'élution et d'analyse à utiliser, dans un souci "d'opérationnalité" et de facilité de mise en oeuvre (notamment dans le cadre de la DCE) nous avons axé la présente étude sur le test des DGT les plus faciles à obtenir (afin de réduire les opérations de fabrication des résines en laboratoire) en utilisant des méthodes d'élution et d'analyse les plus simples possibles.

L'objectif principal a été de tester et valider des DGT "spécial Hg" pour inclure le Hg dans le panel des contaminants métalliques pouvant être suivis par la technique DGT. Une partie importante a été consacrée au choix de la méthode d'analyse du Hg concentrée par la résine des DGT (mesure directe par voie "solide" ou par voie humide après une phase d'extraction/concentration).

5.1. Tests sur le terrain

A partir de DGT Hg (gel agarose/résine Sphéron-thiol) immergés dans le milieu, différentes techniques d'extraction ont été testées. Les éluats issus des extractions "liquide" ont été analysés deux techniques différentes: spectrométrie par torche à plasma (ICP-MS: Inductively coupled plasma mass spectrometry) et spectrométrie de fluorescence atomique à vapeur froide (CV-AFS: Cold vapour atomic fluorescence spectroscopy).
Les résines ont été aussi analysées directement (sans extraction préalable), par voie "sèche" grâce à la spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS: Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry).

5.1.1. Caractéristiques des DGT utilisés

Dans le cadre de cette étude les DGT utilisées ont été fournies prêtes à l'emploi.
Les DGT sont constitués d'une résine Sphéron-thiol et d'un gel de diffusion en agarose. L'épaisseur de la couche de diffusion (gel de diffusion 0.5 mm + filtre de protection en acétate de cellulose 0.13 mm) est de 0.63 mm. La surface de diffusion est de 3.14 cm^2.

5.1.2. Localisation du site d'immersion

Les deux lots de DGT utilisés ont été immergés dans la baie du Lazaret (c.f. 3.1.2. figure 4) le 15 février et le 5 mai 2011.
Lors de la première immersion, trois lignes de DGT ont été mises à l'eau (Fig. 19): 2 lignes de 15 DGT et une ligne de 10 DGT pour des temps d'immersion respectivement de l'ordre de 6, 10 et 20 jours.
Le 5 mai un nouveau lot de 13 DGT a été immergé pendant 7 jours

5.1.3. Paramètres d'immersion et répartition des DGT pour analyses

Les 2 lots ont été immergés à une profondeur de l'ordre de 1.5 m. Les temps d'immersion et les paramètres physico-chimiques mesurés lors de la pose et lors de la récupération des DGT sont indiqués dans le tableau 2.

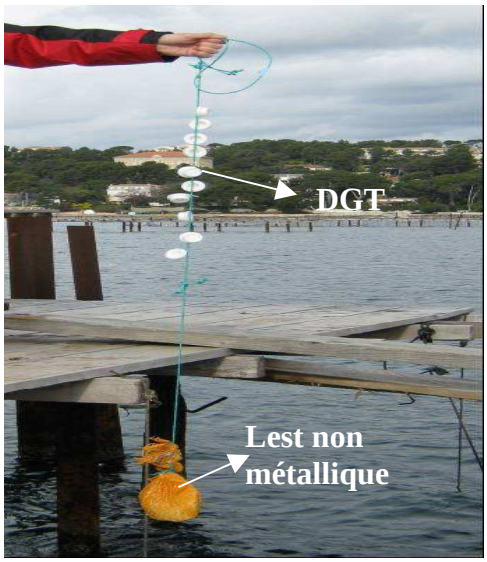


Figure 19: Ligne de mouillage des DGT

Tableau 2: Temps d'immersion, températures et salinités mesurées lors des opérations de pose et de récupération.

	Temps d'immersion (en j)	Température (°C)	Salinité	Température moyenne (utilisée pour les calculs)
Lot du 15 février	0 (pose)	12.5	36	
	6.14	12.7	36.01	12.6
	10.14	12	36.5	12.25
	20.02	12.4	36.9	12.45
Lot du 5 mai	0 (pose)	17.4	37.4	
	6.99	18	37.9	17.7

Dans le tableau 3 sont présentés le traitement (type d'élution) des DGT et les techniques analytiques utilisées pour les différents lots de DGT. Il est à noter que pour chaque lot des blancs (DGT non immergés) ont été réalisés. La plupart des traitements et analyses ont été effectués en triplicat. Le deuxième lot (5 mai) a été immergé suite aux premiers résultats des analyses réalisées sur le lot du 15 février. Sur ce lot, seule une élution par HNO3 1M a été testée ainsi que l'analyse par "voie sèche" (AMA).

5.1.4. Traitement et analyse des échantillons

Après récupération, les DGT sont rincés soigneusement à l'eau "ultra pure" (Milli Q), placés dans une boite en plastique propre et stockés dans une glacière en attendant le retour au laboratoire (environ une demi-heure après la récupération). La température et la salinité du milieu ont été mesurées lors de la pose et lors de la récupération.

Tableau 3: Traitement (type d'élution) des DGT, techniques analytiques utilisées et code des échantillons (entre parenthèses est indiqué le nombre de réplicats analysés) pour les 2 lots de DGT immergés.

Lot du 15 février	**Analyse**	**Immersion 6 jours**	**Immersion 10 jours**	**Immersion 20 jours**
Elution par HNO_3 1M	ICP MS	AHF (3)	BHF (3)	CHF (2)
	CV AFS ("voie liquide")	AH (3)	BH (3)	CH (2)
Elution par thiourée	ICP MS	ATF (3)	BTF (3)	CTF (2)
	CV AFS ("voie liquide")	AT (3)	BT (3)	CT (2)
Pas d'élution (analyse "directe" de la résine)	CV-AAS AMA ("voie sèche")	AS (3)	BS (3)	CS (2)
Lot du 5 mai		**Immersion 7 jours**		
Elution par HNO_3 1M	ICP MS	DHF (4)		
	CV AFS ("voie liquide")	DH (4)		
Pas d'élution (analyse "directe" de la résine)	CV-AAS AMA ("voie sèche")	DS (5)		

Au laboratoire (Centre Ifremer de La Seyne-sur-Mer), sous une hotte à flux laminaire, les DGT sont ouverts et la résine est récupérée avec une pince en plastique et placée dans un tube en polyéthylène de 2 mL.
Les élutions sont réalisées en ajoutant 1,8 mL des solutions de HNO_3 1M ou de thiourée (1,31mM dans 0,1M HCl). La phase d'extraction dure au moins 4h. Ces éluats ont été analysés par ICP-MS ou CV-AFS (Mercur Analytik, Jena).
Des résines sont aussi conservées "sèches" (pas d'élution) dans les tubes en polyéthylène pour analyse en CV-AAS (AMA-254).
Toutes ces opérations ont été réalisées avec des gants en latex (non poudrés) et tout le matériel utilisé (pinces, tubes, flacons contenant les solutions d'élution, embouts de pipette) a été conditionné qualité "analyse traces" (lavage, décontamination dans HNO_3 10%, rinçage eau ultra pure).

5.1.5. Préparation des solutions d'élution

- Solution $HNO_3$1M: HNO_3 suprapur en solution dans de l'eau "ultra pure".

- Solution de thiourée à 1,31mM dans 0,1M HCl (Clarisse and Hintelmann, 2006): ajout de 9,97 mg de thiourée (M = 76,1219 $g.moL^{-1}$) dans 99 ml d'eau Milli-Q, complétée avec 1 mL de HCL concentré suprapur. La solution est agitée et conservée au réfrigérateur à 4°C.

5.1.6. Les différentes techniques analytiques

Pour la mesure de Hg concentré par les résines, trois techniques ont été utilisées: la spectrométrie de masse à plasma couplé par induction (ICP-MS), la spectrométrie de fluorescence atomique à vapeur froide (CV-AFS) et la spectrométrie d'absorption atomique à vapeur froide (CV-AAS). Les deux premières techniques sont utilisées pour les analyses par voie liquide (analyse des éluats de HNO_3 1M et de thiourée) et la dernière pour l'analyse directe des résines (pas d'élution) par voie sèche.

L'analyse du Hg total dissous contenu dans l'éluat par CV-AFS est basée sur la technique développée par Bloom et Fitzgerald (1988). Après oxydation par BrCl, Hg est volatilisé sous forme de Hg^0 par l'ajout de $SnCl_2$. Hg^0 est préconcentré sur un piège en or et mesuré par AFS. La procédure détaillée est décrite par Cossa *et al* (2003). Dans notre étude, l'analyse des éluats (HNO_3 et thiourée) par CV-AFS a été faite avec et sans ajout de BrCl.

L'analyse directe des résines a été réalisée en utilisant une méthode semi-automatique (AMA-254, Altec, www.leco.com/products/organic/ama254/ama_254.html). Les résines sont placées directement dans des capsules en nickel qui sont chauffées à 550 °C. Le mercure est volatilisé sous forme de Hg^0 et entrainé (flux riche en O_2) vers un piège en or où il est préconcentré et mesuré par spectrométrie d'absorption atomique (Cossa *et al*, 2002).

5.1.7. Résultats

Les résultats des analyses exprimés en quantité de Hg (ng) mesuré sur les résines sont présentés dans le tableau 4 et la figure 20. Afin de pouvoir comparer aux résultats obtenus par voie "sèche" (exprimés en ng), et les résultats obtenus par les techniques analytiques voie humide (en ng/L), ces derniers sont exprimés en ng:

M = Ce* (Ve+Vg)/fe
avec :
- M : quantité de Hg concentré sur la résine en ng,
- Ce: concentration mesurée dans l'éluat en ng/L,
- Ve: volume de l'éluat en mL (1.8 mL),
- Vg: volume du gel en mL (0.16 ml),
- fe: facteur d'élution (90%)

Le facteur d'élution a été fixé 90%, il peut varier de 80 à 90% en fonction des techniques d'élution (Clarisse and Hintelmann, 2006; Chess *et al*, 2010; Fernández-Gómez *et al*, 2011).

Tableau 4: Résultats des analyses des résines Sphéron-thiol ayant été immergées sur le même site [le chiffre entre parenthèses indique le nombre (n) de résines analysées; moy: masse de Hg moyenne (en ng) mesurée sur la résine; %variation: pourcentage de déviation standard si n ≥ 3 ou différence entre la moyenne et la valeur minimale (ou maximale) exprimée en % si n= 2].

	CV-AFS Sans BrCl			avec BrCl		**ICP-MS**			**AMA**		
		moy (ng)	***%variation***	**moy (ng)**	***%variation***		**moy (ng)**	***%variation***	**CV-AAS**	**moy (ng)**	***%variation***
Lot du 15 février											
HNO3	6 j (3)	**0.25**	***59***	**0.45**	***60***	6 j (3)	**1.08**	***8***	6 j (3)	**0.49**	***14***
	10 j (3)	**0.69**	***66***	**0.43**	***31***	10 j (3)	**1.55**	***47***	10 j (3)	**0.59**	***19***
	20 j (2)	**0.96**	***20***	**0.50**	***23***	20 j (2)	**1.24**	***3***	20 j (3)	**0.46**	***11***
Thiourée	6 j (3)	**0.06**	***0***	**LD**		6 j (3)	**2.17**	***46***			
	10 j (3)	**0.04**	***0***	**LD**		10 j (3)	**1.44**	***22***			
	20 j (2)	**0.03**	***0***	**LD**		20 j (2)	**4.36**	***22***			
Lot du 5 mai											
HNO3	7 j (4)	**0.02**	***53***	**0.08**	***105***	7 j (4)	**2.37**	***25***	7 j (5)	**0.31**	***18***

Pour les deux lots de DGT immergés (le 15 février et le 5 mai), seules 2 méthodes donnent des résultats relativement proches: l'élution par HNO3 et analyse par CV-AFS; l'analyse directe par AMA.

Il est à noter que c'est dans le cas de l'analyse directe que la variabilité est la plus faible et que seules les mesures réalisées par CV-AFS (sans ajout de BrCl) montrent une nette augmentation en fonction du temps d'immersion de la masse de Hg concentré par la résine (Fig. 20).
Les élutions faites avec le thiourée et mesurées par CV-AFS (avec ou sans ajout de BrCl) se caractérisent par des concentrations très faibles ou inférieures aux limites de détection (Tab. 4). Clarisse et Hintelmann (2006) ont montré que le thiourée forme des complexes très stables avec Hg qui interférent avec la réaction d'éthylation sur laquelle est basée la méthode (Hintelmann and Evans, 1997) mise en oeuvre par les auteurs pour doser le méthylmercure concentré par des résines de DGT de type 3 mercapto- propyl (Best *et al*, 2009; Clarisse *et al*, 2009; 2010 et 2012).
Nous avons testé l'effet de matrice des deux méthodes d'élution en réalisant des gammes étalon de Hg dans une solution d'eau "ultra pure", une solution de HNO_3 et une solution de thiourée dans le cas d'analyses par CV-AFS. De plus, BrCl étant un réactif qui intervient dans le protocole de la détermination du mercure total dans un échantillon liquide par CV-AFS. Les gammes étalons ont été réalisées avec et sans ajout de BrCl pour les trois solutions.

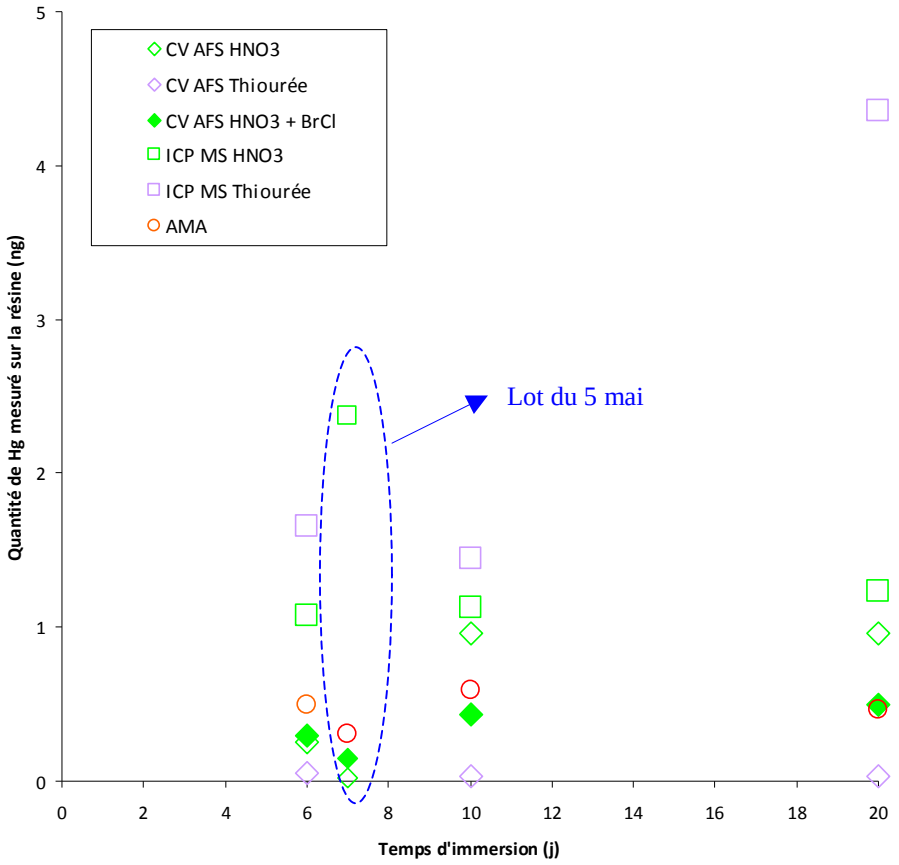


Figure 20: Résultats des analyses des résines suite aux différentes élutions et techniques analytiques.

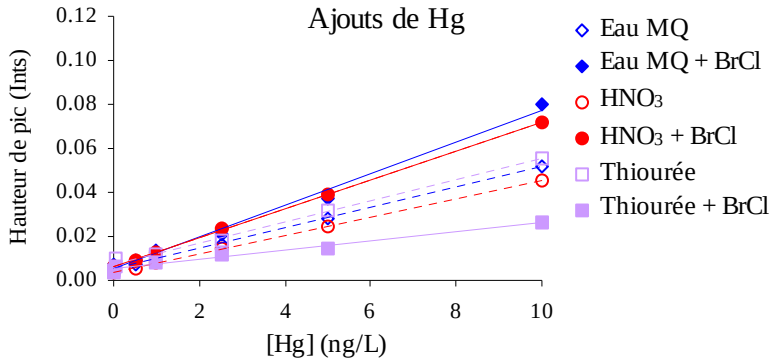


Figure 21: Test de l'effet de matrice des solutions d'élution.

Les résultats (Fig. 21) indiquent que pour les ajouts de Hg dans de l'eau "ultra-pure", ou dans la solution de HNO3 1M, la réponse (intensité de fluorescence) est plus importante quand BrCl est présent. De plus, les réponses obtenues sont pratiquement les mêmes pour ces deux solutions, avec et sans ajout de BrCl.
En ce qui concerne les ajouts réalisés dans la solution de thiourée, on constate que contrairement au cas de l'eau "ultra-pure" et ou de HNO_3, que les intensités de fluorescence sont nettement plus faibles en présence de BrCl, ce qui est en accord avec les résultats obtenus (Tab. 4). Ces données confirment qu'une interférence thiourée/BrCl (réduction, complexation ?) ne permet pas d'utiliser cette méthode d'élution pour une analyse par CV-AFS car l'ajout de BrCl est l'une des étapes requises pour la mesure de Hg par cette technique, cette étape permettant de dissocier le mercure présent sous forme de complexes organiques, Hg^{2+} est ensuite réduit en Hg^0 par l'ajout d'une solution de chlorure d'étain ($SnCl_2$).
Par contre, les résultats obtenus suite à une élution par HNO3 (avec ou sans ajout de BrCl) sont tout à faits comparables à ceux obtenus par AMA (Tab. 4).

Les analyses réalisées par ICP MS montrent que quelle que soit la méthode d'élution, les teneurs en Hg mesurées sont très élevées par rapport aux autres méthodes (Tab. 4). Il est a noter aussi que les valeurs obtenues sont en moyenne plus fortes après une élution avec la solution de thiourée.

5.2. Tests en laboratoire

Lors des premiers tests *in situ*, un seul type de DGT a été utilisé (gel agarose/résine Sphéron-thiol). Depuis cette étude, d'autres travaux ont été menés avec d'autres types de DGT, d'autres techniques analytiques et méthodes d'élution (Tab. 1).
Pour les tests en laboratoire, nous avons choisi d'utiliser deux types de résines (Sphéron-thiol et Chelex 100) et deux types de gels (agarose et polyacrylamide) que nous avons combiné pour travailler avec 3 types de DGT différents (Tab. 5). Ce choix est basé sur le fait qu'à l'heure actuelle il est facile de se procurer ces DGT "prêts à l'emploi" et que l'utilisation conjointe des deux types de résines pourrait permettre, en plus de la mesure de la concentration en Hg dans l'eau, d'évaluer la spéciation de cet élément. Les groupements iminodiacétate de la résine Chelex 100 concentrent plutôt les composés du mercure sous forme ionique ou sous forme de complexes "faibles", tandis que l'affinité de Hg pour les groupements thiols (résine Sphéron-thiol) permettrait de fixer aussi le mercure sous forme de complexes forts. La différence entre les concentrations mesurées par ces deux résines serait représentative du mercure sous forme de MeHg ou associé à des complexes organiques "forts" (Docekalova et Divis, 2005; Divis *et al*, 2005). La première évaluation des performances de ces deux types de résines (associées à un gel agarose) a

été réalisée expérimentalement dans le domaine de la chimie des sols (Cattani *et al*, 2008; 2009).

Tableau 5: DGT utilisés

	Gel	Résine	Acronyme
DGT Hg "normal"	agarose	Sphéron-thiol	AS
DGT combinaison 1	polyacrylamide	Sphéron-thiol	PS
DGT combinaison 2	agarose	Chelex 100	AC

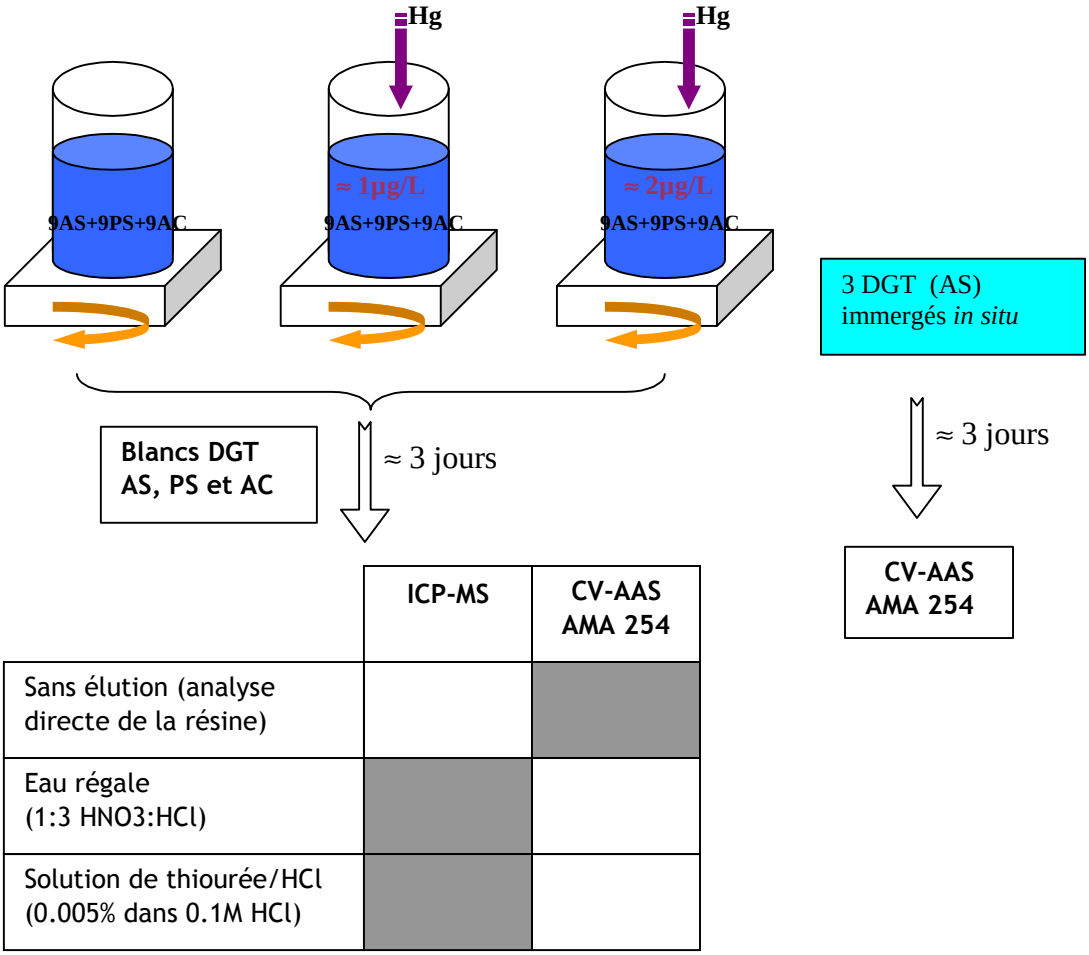
La principale réserve concernant l'utilisation des gels en polyacrylamide est due au fait, qu'au cours de la diffusion vers la résine, une partie de Hg serait fixée par les groupements amine du gel ce qui impliquerait qu'il est difficile d'interpréter quantitativement les résultats obtenus (Docekalova and Divis, 2005; Divis *et al*, 2005; 2009; 2010). Malgré ces réserves, ces gels associés à des résines "3 mercapto-propyl" (Clarisse and Hintelmann, 2006; Best *et al*, 2009, Clarisse *et al*, 2009; 2010; 2012) sont utilisées pour mesurer MeHg en milieu marin (eau et sédiments). Des travaux indiquent que dans ce type de DGT le gel ne fixe pas Hg (Fernández-Gómez *et al*, 2011). Dans notre étude, nous avons aussi testé la combinaison polyacrylamide/Sphéron-thiol (Tab. 5) qui n'a jamais été utilisée.

Au vu des résultats obtenus lors des premiers tests, seules deux méthodes analytiques ont été mises en oeuvre (ICP MS et CV-AAS). Pour les méthodes d'élution nous avons choisi de poursuivre les essais avec la solution de thiourée et de tester l'extraction par l'eau régale, car d'après les quelques données disponibles ces deux procédés semblent les plus efficaces en terme de facteur d'élution (Clarisse and Hintelmann, 2006; Best *et al*, 2009; Clarisse *et al*, 2009; 2010; 2012; Fernández-Gómez *et al*, 2011; Gao *et al*, 2011).

Ces tests en laboratoire ont été menés en collaboration avec l'Institut AZTI Tecnalia (Marine Research Division) du Pays Basque Espagnol.

5.2.1. Protocole

De l'eau de mer (non filtrée) a été prélevée et placée dans 3 cuves en plastique (préalablement nettoyées). Chacune des cuves a été remplie avec 10 L d'eau de mer et agitée en continu (agitateur orbital). Des ajouts d'une solution étalon de Hg ont été faits dans deux des cuves pour obtenir des concentrations de l'ordre de 1µg/L et 2µg/L. Après un temps d'équilibrage de l'ordre de 24 H, les 3 types de DGT sont placés dans chacune des cuves (Fig. 22). Un prélèvement d'eau est effectué dans chaque cuve en début et en fin d'expérimentation afin de mesurer par CV-AFS (Cossa *et al*, 2003) l'évolution de la concentration en Hg.
En parallèle, 3 DGT de type AS ont été immergés sur le site où l'eau a été prélevée.
Des blancs "laboratoire" ont été réalisés sur chaque lot de DGT utilisé. Ces blancs correspondent des DGT issus de chaque type utilisé et qui ont subit le même traitement (récupération de la résine, élution, analyse) que les DGT immergés.



	ICP-MS	CV-AAS AMA 254
Sans élution (analyse directe de la résine)		
Eau régale (1:3 HNO3:HCl)		
Solution de thiourée/HCl (0.005% dans 0.1M HCl)		

Figure 22: Protocole expérimental (AS: DGT gel agarose-résine Sphéron-thiol; PS: DGT gel polyacrylamide-résine Sphéron-thiol; AC: DGT gel agarose-résine Chelex 100).

5.2.2. Résultats

Les résultats des analyses des échantillons d'eau prélevés dans chaque cuve en début et en fin d'expérimentation sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6: Evolution de la concentration en Hg total dans les cuves au cours de l'expérimentation (environ 3 jours d'immersion).

Nom de la cuve	Hg ajouté dans chaque cuve (µg/L)	Hg mesuré T_0 (ng/L)	Proportion de Hg "adsorbé/volatilisé" 24 h après l'ajout (%)	Hg mesuré T_{Final} (ng/L)	Proportion de Hg "adsorbé/volatilisé" du début à la fin de l'expérimentation (%)
W	-	1	-	LD	-
W1	1	340	66	210	79
W2	2	630	68	240	88

Ces données sont en accord avec les observations de Clarisse et al (2012) qui indiquent que lors d'une expérimentation, les quantités de mercure ajoutées dans différents réacteurs ont diminué de 55 à 90% (avant l'immersion de DGT). Ces pertes peuvent être expliquées par l'adsorption de Hg sur les parois des réacteurs et les processus de volatilisation.

Dans le tableau 7 sont présentées les teneurs en Hg mesurées sur des résines "blancs laboratoire" et dans les réactifs utilisés pour les élutions (solution de thiourée et eau régale). Les résultats montrent qu'il y a une disparité importante de la valeur des blancs en fonction du lot, du mode d'élution et d'analyse. Toutes les mesures réalisées en ICP MS, quelque soit le type de DGT ou d'élution, indiquent des valeurs inférieures aux limites de

détection (<0.1µg/L). Les concentrations déterminées dans les réactifs d'élution sont aussi en dessous de la limite de détection (LD).
Comme précédemment (c.f. 5.1.7.), afin de pouvoir comparer les résultats obtenus par voie AMA (exprimés en ng) et les résultats obtenus par ICP MS (en µg/L), ces derniers ont été exprimés en ng. La limite de détection des analyses en ICP MS (<0.1µg/L) correspond à une masse de Hg sur la résine de l'ordre de 0.22 ng (en prenant un facteur d'élution de 0.9) que la technique AMA permet de mesurer sans problème.

Tableau 7: Résultats des analyses des blancs de résine et des réactifs d'élution [AS: résine Sphéron-thiol; PS: résine Sphéron-thiol; AC: résine Chelex 100. Le chiffre entre parenthèses indique le nombre (n) de résines analysées; moy: teneur en Hg moyenne (en µg/L pour les mesures par ICP MS et ng pour les mesures AMA); %variation: pourcentage de déviation standard].

Blancs Résine

		ICP-MS		AMA		
		moy (µg/L)	*%variation*		moy (ng)	*%variation*
Eau Régale	AS(3)	**LD**		AS(3)	**0.22**	***19***
	PS(3)	**LD**		PS(3)	**0.37**	***12***
	AC(3)	**LD**		AC(3)	**0.42**	***17***
Thiourée	AS(3)	**LD**				
	PS(3)	**LD**				
	AC(3)	**LD**				

Blancs réactifs d'élution

	ICP-MS		
		moy (µg/L)	*%variation*
Eau Régale	(3)	**LD**	
Thiourée	(3)	**LD**	

Il est à noter que les valeurs de "blanc résine" les plus élevées correspondent aux DGT de type PS et AC qu'il a fallu constituer à partir des DGT de type AS et PC, des contaminations des résines au cours de ces opérations pourraient expliquer ces résultats.

Comme mentionné précédemment, des travaux (Docekalova et Divis, 2005; Divis *et al*, 2005; 2009; 2010) indiquent que les membranes gels de diffusion en polyacrylamide ne sont pas utilisables pour l'application de la technique DGT au Hg du fait que les groupements amide constituant ce type de gel fixent (liaison covalente) une partie du mercure qui diffuse vers la résine. Dans le tableau 8 sont présentées les mesures réalisées sur les gels d'une partie des DGT utilisés au cours de l'expérimentation. A part dans la cuve W1 (ajout de 1µg/l mais concentration en Hg résiduelle de l'ordre de 0.2 à 0.3 µg/l c.f. Tab. 6) les gels en polyacrylamide ne semblent pas avoir accumulé plus de Hg que les gels en agarose. Il est à noter que les teneurs dans les gels sont du même ordre que celle mesurées dans les blancs de résine (Tab. 7).

Tableau 8: Résultats des analyses des membranes de diffusion [AS et AC: gel en agarose; PS: gel en polyacrylamide. Le chiffre entre parenthèses indique le nombre (n) de gels analysés; moy: teneur en Hg moyenne (ng pour les mesures AMA); %variation: pourcentage de déviation standard].

AMA		
	Moy (ng)	% variation
PS(2)	**0.04**	***8***
PSW1(3)	**0.41**	***43***
PSW2(3)	**0.13**	***14***
ASW2(3)	**0.19**	***18***
ACW2(3)	**0.23**	***11***

Les mesures par ICPMS et AMA des DGT immergés sont présentées dans le tableau 9. La majorité des analyses faites par ICP MS sont inférieures à LD. Toutes les extractions réalisées avec la solution de thiourée, quelque soit le type de DGT, se caractérisent par des concentrations inférieures à LD. Des niveaux de Hg quantifiables ont été mesurés après extraction à l'eau régale, uniquement avec les DGT constitués d'une résine Sphéron-thiol: dans les bacs W1 et W2 avec les gels en agarose; uniquement dans le bac W2 avec les gels en polyacrylamide.

Par rapport aux mesures AMA, sur les mêmes DGT, les teneurs déterminées par ICPMS sont beaucoup plus faibles ou inférieures aux limites de détection. Il faudrait que le facteur d'élution soit inférieur à 35 % pour avoir des teneurs comparables.
Dans certains cas (ASW, ACW, 1 et 2), les teneurs déterminées par AMA (Tab. 9) sont inférieures ou proches de la LD ICP MS (de l'ordre de 0.22 ng en supposant un taux d'élution de 0.9) ce qui explique qu'elles n'ont pas pu être mesurées par cette technique.
Si à partir des masses en Hg mesurées par AMA on calcule les concentrations correspondantes en supposant que l'on élue la résine avec un facteur d'élution de 80 % on constate que dans de nombreux cas la limite de détection de l'ICPMS ne serait pas suffisante pour mesurer la masse de Hg concentré en 2 jours.

La figure 23 rassemble les résultats des différents DGT analysés par AMA. Les DGT de type AS et PS indiquent clairement une augmentation de la masse de Hg mesuré dans les résines en fonction de la concentration de Hg dans les cuves. Dans chacune des cuves, la masse de Hg accumulé par les 2 types de DGT (AS et PS) est du même ordre, sauf dans le cas de la cuve W1 où la teneur moyenne des DGT PS est nettement plus élevée (à noter le pourcentage de déviation standard important).
Les DGT de type AC s'individualisent par des teneurs beaucoup plus faibles, en accord avec le fait que les groupements iminodiacétate de la résine Chelex 100 concentrent surtout les composés de Hg sous forme ionique ou sous forme de complexes "faibles", tandis que les groupements thiols de la résine Sphéron-thiol permettent de fixer aussi le mercure sous forme de complexes forts. La différence entre les masses accumulées par ces deux résines pourrait représenter le mercure sous forme de MeHg ou associé à des complexes organiques "forts" (Docekalova et Divis, 2005; Divis *et al*, 2005).

Il est à noter que l'utilisation de l'eau régale comme solution d'élution a posé des problèmes d'ordre pratique liés au dégagement important de chlore pendant une période relativement longue: difficile de pipeter avec précision les volumes d'élution (bulles dans l'embout de pipette); les tubes d'élution doivent rester ouverts assez longtemps pour dégazer; le dégazage occasionne des problèmes d'étanchéité au niveau des bouchons.

Tableau 9: Résultats des analyses des DGT ayant été immergés dans les 3 cuves. [Type de DGT: AS= Agarose/Sphéron-thiol; PS= Polyacrylamide/Sphéron-thiol; AC= Agarose/Chelex 100; milieu d'immersion: W= cuve eau de mer; W1= cuve eau de mer + ajout Hg 1 µg/L; W2= cuve eau de mer + ajout Hg 2 µg/L (c.f. Fig. 22). Le chiffre entre parenthèses indique le nombre (n) de résines analysées; moy: teneur moyenne en Hg (ng); %variation: pourcentage de déviation standard si n ≥ 3 ou différence entre la moyenne et la valeur minimale (ou maximale) exprimée en % si n= 2].

	ICP-MS			AMA		
		moy (ng)	*%variation*		moy (ng)	*%variation*
Eau Régale	ASW(2)	LD		ASW(3)	0.25	*81*
	ASW1(2)	0.29	*11*	ASW1(3)	0.78	*1*
	ASW2(3)	0.33	*10*	ASW2(3)	2.80	*4*
	PSW(3)	LD		PSW(3)	0.36	*73*
	PSW1(3)	LD		PSW1(3)	1.41	*22*
	PSW2(3)	0.30	*0*	PSW2(3)	3.04	*11*
	ACW(2)	LD		ACW(3)	0.13	*38*
	ACW1(3)	LD		ACW1(3)	0.28	*47*
	ACW2(3)	LD		ACW2(3)	0.19	*21*
Thiourée	ASW(3)	LD				
	ASW1(3)	LD				
	ASW2(3)	LD				
	PSW(3)	LD				
	PSW1(3)	LD				
	PSW2(3)	LD				
	ACW(3)	LD				
	ACW1(3)	LD				
	ACW2(3)	LD				

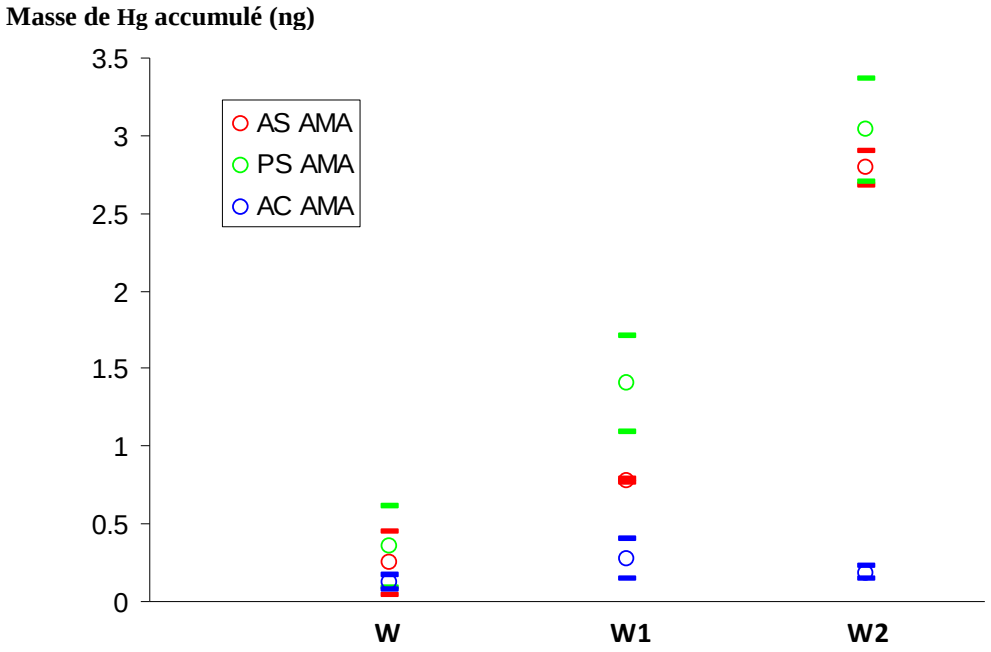


Figure 23: Résultats des analyses AMA des DGT ayant été immergés dans les 3 cuves. [Type de DGT: AS= Agarose/Sphéron-thiol; PS= Polyacrylamide/Sphéron-thiol; AC= Agarose/Chelex 100; milieu d'immersion: W= cuve eau de mer; W1= cuve eau de mer + ajout Hg 1 µg/L; W2= cuve eau de mer + ajout Hg 2 µg/L].

5.2.2.1. Calcul des concentrations dans l'eau des cuves

A partir des masses de Hg mesurées par la technique AMA (Tab. 9), les concentrations correspondantes (C) dans l'eau ont été calculées (Tab. 10):

$C_{DGT} = M\Delta g / tADm$

avec:
- M (ng): masse de Hg analysé après élution de la résine (Tab. 9);
- Δg (cm): épaisseur du gel de diffusion= 0.063 cm pour les gels en agarose et 0.093 cm pour les gels en polyacrylamide;
- t (s): temps d'immersion du DGT (environ 3 jours);
- A (cm^2): surface du gel exposée= 3.14 cm^2;
- Dm (cm^2/s): coefficient de diffusion du métal dans le gel, de l'ordre de celui de Hg dans l'eau= $9.13*10^{-6}$ cm^2/s (à 25ºC) pour les gels en polyacrylamide et $8.97*10^{-6}$ cm^2/s (25ºC) pour les gels en agarose (Divis *et al*, 2009).

Tableau 10: Concentrations "DGT" en Hg calculées à partir des mesures AMA . [Type de DGT: AS= Agarose/Sphéron-thiol; PS= Polyacrylamide/Sphéron-thiol; AC= Agarose/Chelex 100; milieu d'immersion: W= cuve eau de mer; W1= cuve eau de mer + ajout Hg 1 µg/L; W2= cuve eau de mer + ajout Hg 2 µg/L].

Cuve	Type DGT	Concentration DGTs (ng/L)
W	PS	**4.91**
	AS	**2.39**
	AC	**1.22**
W1	PS	**20.08**
	AS	**7.76**
	AC	**2.79**
W2	PS	**42.67**
	AS	**27.04**
	AC	**1.85**

La figure 24 présente les concentrations calculées. Si l'on compare ces concentrations par rapport à celles qui ont été mesurées dans les cuves (Tab. 6) on constate une nette sous estimation des teneurs en Hg déterminées par la technique DGT. Cette différence peut être en grande partie liée au fait que les mesures faites par CV-AFS ont été réalisées sur de l'eau de mer non filtrée qui comprend les espèces de Hg les plus "labiles" récupérées par la technique DGT plus une fraction plus ou moins importante constituée de complexes organiques "forts" ainsi que les formes colloïdales et une partie de Hg associé aux particules.

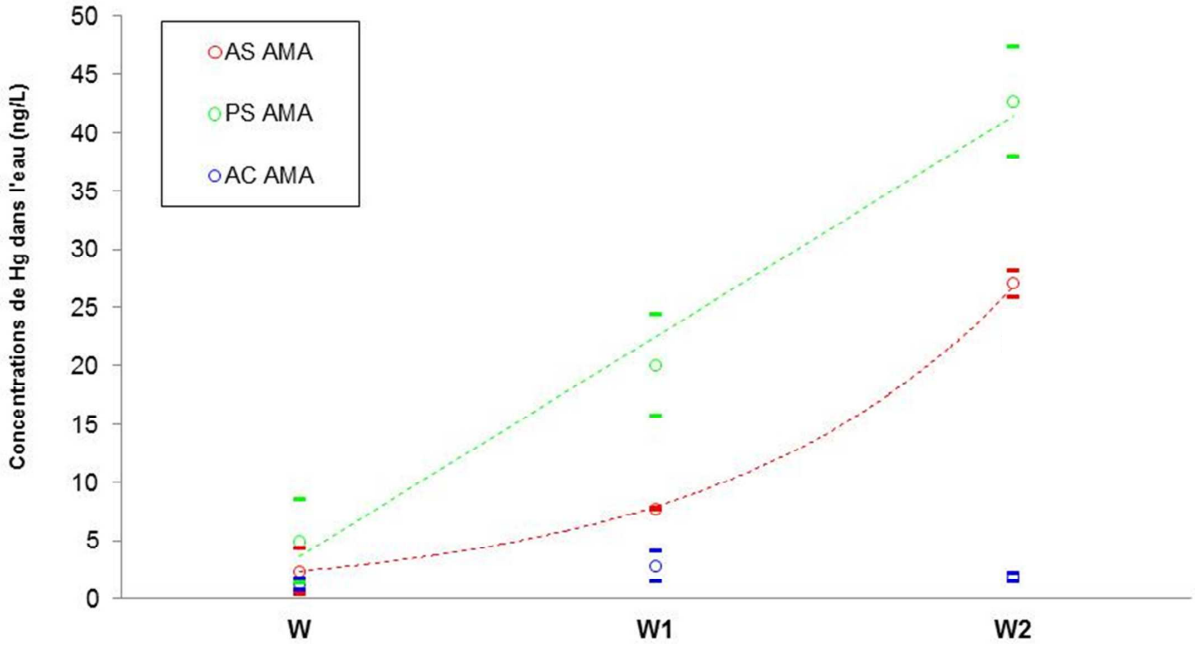


Figure 24: Concentrations "DGT" en Hg dans l'eau des 3 cuves. [Type de DGT: AS= Agarose/Sphéron-thiol; PS= Polyacrylamide/Sphéron-thiol; AC= Agarose/Chelex 100; milieu d'immersion: W= cuve eau de mer; W1= cuve eau de mer + ajout Hg 1 µg/L; W2= cuve eau de mer + ajout Hg 2 µg/L].

De plus, le calcul des concentrations a été réalisé en utilisant des coefficients de diffusion qui assument que tout le mercure qui a diffusé a travers les gels et concentré par les résines est sous forme sous forme ionique et "petits" complexes. Une partie de Hg pourrait aussi être présent sous forme de complexes organiques (DOM) de plus grande taille qui diffuseront beaucoup moins vite à travers le gel de diffusion. Fernández-Gómez *et al* (2011) ont mis en évidence que le taux de diffusion de Hg est de 10 à 20 fois plus faible quand il est associé à de la matière organique "dissoute". Ces auteurs proposent des coefficients de diffusion pour les complexes Hg-DOM de l'ordre de $6.14*10^{-7}$ cm^2/s (25°C) pour un gel en polyacrylamide et de $9.22*10^{-7}$ cm^2/s (25°C) pour un gel en agarose. Il est à noter que l'utilisation d'un gel de type agarose, du fait d'une porosité plus importante permet la diffusion de complexes de plus grande taille par rapport au gel de polyacrylamide.

D'après Ramalhosa *et al*. (2006), le mercure "réactif" (Hg (II), Hg0, Hg sous forme de complexes inorganiques, Hg associé à de la matière organique via des liaisons "faibles") ne représenterait qu'une faible proportion de Hg total "dissous". Une partie importante de Hg serait sous forme de complexes organiques peu "réactifs" (par rapport à la technique DGT).

5.2.2.2. Calcul des concentrations *in situ*

Le tableau 11 présente les mesures réalisées avec des DGT in situ en 2011 (DGT de type dans la baie du Lazaret (c.f. 5.1.) et en 2012 dans la darse de l'Ifremer où l'eau des expérimentations a été prélevée (5.2.1.). Dans tous les cas les DGT utilisés sont du même type (AS).
Dans le cas des mesures réalisées en février, il est a noter que la masse de Hg accumulée au cours du temps n'augmente pas dans les 20 derniers jours ce qui peu être lié à une baisse des concentrations dans l'eau au cours de cette période ou à un problème d'ordre analytique sur l'un des réplicats (ce triplicat s'individualise par le pourcentage de variation le plus élevé). L'évolution des concentrations sur le site en février indique une baisse des concentrations dans l'eau au cours du temps. A titre de comparaison, les mesures réalisées

dans la darse Ifremer sont du même ordre de grandeur. Il est à noter que les concentrations déterminées par immersion des DGT dans la darse (3.1 ng/L) sont tout à fait comparables à celles mesurées (avec des DGT de même type: AS) dans la cuve dans laquelle a été placée l'eau de la darse sans ajout de Hg (2.4 ng/L c.f. Tab. 10).

Tableau 11: Concentrations en Hg dans l'eau calculées à partir des DGT immergés en 2011 et 2012 (Hg mesuré par la technqiue AMA)

Mesures AMA

	Temp immersion (en j)	Moy (ng)	C (ng/L)	% variation
Baie du Lazaret				
15 Fév. 2011	6 j (3)	**0.49**	**3.03**	***14***
	10 j (3)	**0.59**	**2.22**	***19***
	20 j (3)	**0.46**	**0.86**	***27***
5 Mai 2011	7 j (5)	**0.31**	**1.41**	***18***
Darse Ifremer				
17 Fév. 2012	3 j (2)	**0.21**	**3.1**	***23***

5.3. Conclusions

Ces premiers résultats ont pour but de contribuer au choix des méthodes d'élution et d'analyse des DGT Hg. Dans le cadre d'une éventuelle utilisation de la technique DGT pour mesurer Hg dans le cadre de la DCE (Hg fait partie des 4 métaux prioritaires), un des critères qui semble important repose sur le choix des méthodes les plus facilement transférables, simples à mettre en oeuvre (notamment dans les DOMs) et peu coûteuses.
A ce titre, la mesure des résines de DGT par CV-AAS (AMA 254) est la plus avantageuse, elle évite la préparation d'une solution d'élution et elle est très facilement transférable. Le coût de l'appareil nécessaire est le moins élevé des trois techniques. Le coût d'une analyse en triplicat est de l'ordre d'une dizaine d'euros. Les résultats obtenus par cette méthode lors de ces premiers essais sont encourageants. Cette méthode d'analyse des résines semble la plus efficace, elle permet de mesurer des concentrations très faibles, de plus, comme elle est basée sur la combustion totale de la résine, il n'y a pas de facteur d'élution à déterminer et à utiliser dans les calculs, ce qui limite l'introduction d'incertitudes supplémentaires.

En ce qui concerne l' ICP MS, une élution est nécessaire, et vu le coût de l'instrument requis ainsi que les compétences techniques associées, en vue d'une application dans le cadre de la DCE, il ne peut être envisagé qu'une sous-traitance des analyses des éluats. Par rapport aux mesures "terrain" réalisées par CV-AAS, les fortes valeurs obtenues et une variabilité plus importante des mesures restent à expliquer. De plus, l'étude en laboratoire montre que la LD de cette méthode peut être insuffisante pour mesurer la masse de Hg concentré sur une résine après un temps d'immersion relativement faible ou dans des eaux où les concentrations en Hg "labile" sont très faibles.

La mesure par CV-AFS est à l'heure actuelle l'une des méthodes les plus précises pour mesurer Hg à des niveaux très faibles en milieu marin, mais elle nécessite la maîtrise de diverses opérations (Cossa *et al*, 2003). De plus, cette technique ne permet pas, comme le montrent les résultats obtenus, l'utilisation de la solution de thiourée pour réaliser les élutions.

En ce qui concerne le choix des méthodes d'élution, nous ne recommandons pas l'utilisation de l'eau régale qui pose des problèmes d'ordre pratique. Le dégagement important de chlore pendant une période relativement longue fait qu'il est difficile de pipeter avec précision les volumes d'élution (bulles dans l'embout de pipette), que les tubes d'élution

doivent rester ouverts assez longtemps pour dégazer et que le dégazage occasionne des problèmes d'étanchéité au niveau des bouchons.

L'ensemble des résultats obtenus (expérience "terrain" et "laboratoire") montre que les extractions par "voie humide" via des réactifs (HNO_3, eau régale, thiourée) ne sont pas satisfaisantes pour des raisons d'ordre pratique, d'efficacité de l'extraction ou du fait des limites de détection de la méthode d'analyse (ICP MS).

En ce qui concerne le choix du type de DGT, l'utilisation de DGT Agarose/Chelex permet de quantifier la fraction dissoute sous forme ionique, sous forme de complexes organiques "faibles", tandis que l'utilisation du type Agarose/Sphéron-thiol permet en plus d'échantillonner le mercure présent sous forme de complexes "forts" (MeHg et Hg associé à des composés organiques). L'emploi conjoint des 2 types de DGT pourrait permettre une bonne évaluation de Hg sous forme de complexes "forts" (Docekalova et Divis, 2005; Divis *et al*, 2005), notamment de MeHg (espèce la plus toxique et facilement bioaccumulable) qui ne représente qu'une très faible fraction du mercure total dissous difficile à mesurer (concentrations en milieu marin souvent inférieures au ng/L).

6. Conclusions et perspectives

Les techniques d'échantillonnage passif présentent de nombreux avantages et leurs possibilités d'utilisation dans le cadre de la DCE suscitent un intérêt croissant. Différentes études portant sur leur opérationnalité à "grande échelle" et leur validation (intercalibrations) ont été menées et montrent que ces techniques peuvent être utilisées pour optimiser les réseaux de contrôle et en contrôle d'enquête (Mazzella *et al*, 2011). Une utilisation dans le cadre des contrôles opérationnels et de surveillance nécessite des développements complémentaires, notamment en ce qui l'amélioration de certains aspects métrologiques et les possibilités d'échantillonner des composés qui ne sont pas encore couverts par ces outils. Ce sont ces deux aspects sur lesquels notre étude a porté plus particulièrement, les principaux acquis sont:

- une contribution au choix de matériaux pour la technique POCIS afin de retarder et réduire de l'apparition de fouling;

- la réalisation d'un système d'agitation *in situ* pour évaluer le rôle de l'hydrodynamique sur le taux d'échantillonnage des POCIS et pour pouvoir le calibrer sur le terrain (ou en laboratoire);

- la proposition d'une "nouvelle géométrie" de cage POCIS et de support DGT qui permet de réduire considérablement les volumes à transporter et à stocker, de simplifier toutes les opérations de conditionnement et de limiter les risques de contamination;

- une participation au choix des méthodes "DGT Hg" (type de DGT, méthode d'élution et d'analyse);

Cette étude s'inscrit dans la suite des actions menées pour développer et améliorer des outils innovants pouvant être utilisés dans le cadre de la surveillance. Elle devrait aussi permettre d'aider aux choix et à l'adaptation des stratégies de surveillance applicables pour répondre à la DCE, notamment en ce qui concerne le choix d'échantillonneurs pertinents.

7. Références

Alvarez D.A., Petty J.D., Huckins J.N., Jones-Lepp T.L., Getting D.T, Goddard J.P., Manahan S.E. (2004) Development of a passive, in situ, integrative sampler for hydrophilic organic contaminants in aquatic environments. Environ. Toxicol. Chem., 23, 1640–1648.

Best E. P. H., Hintelmann H., Clarisse O., Furey J. S., Greenfield B. and Dimock B. (2009) Comparison of DGT Sentinels and Bioassays for Long-term Mercury TMDL Monitoring under San Francisco Bay Field Conditions. Final Report, US Army Corps of Engineers, ERDC/EL TR-09-22, 46 p.

Bicak N. and Sherrington D.C. (1995) Mercury sorption by "non-functional" crosslinked polyacrylamides. Reactive and Functional Polymers, Vol 27, Issue 3, 155-161.

Bloom N.S., Fitzgerald W.F. (1988) Determination of volatile mercury species at the picogram level by low-temperature gas chromatography with cold-vapour atomic fluorescence detection Anal. Chim. Acta, 208 (1988), pp. 151–161.

Cattani I., Spalla S., Beone G.M., Del Re A.A.M., Boccelli R., and Trevisan M. (2008) Characterization of mercury species in soils by HPLC-ICP-MS and measurement of fraction removed by diffusive gradient in thin films. Talanta, 74, 1520-1526.

Cattani I., Zhang H., Beone G.M., Del Re A.A., Boccelli R. and Trevisan M. (2009) The role of natural purified humic acids in modifying mercury accessibility in water and soil. J. Environ. Qual., 38(2), 493-501.

Chess T. W. (2010). Laboratory optimization and field demonstration of diffusive gradients in thin films for in situ mercury measurements of river sediments. Thesis, Master of Science in Engineering, The University of Texas at Austin.

Clare A.S. and Evans L.V. (2000) Marine Biofouling: Introduction. Biofouling, 16, 81-82. Proceedings of International Symposium on Marine Biofouling, University of Plymouth, 7-9 July 1999.

Clarisse O. and Hintelmann H. (2006) Measurements of dissolved methylmercury in natural waters using diffusive gradients in thin film (DGT). J. Environ. Monit. 8, 1242–1247.

Clarisse O., Foucher D. and Hintelmann H. (2009) Methylmercury speciation in the dissolved phase of a stratified lake using the diffusive gradient in thin film technique. Environ. Pollut. 157, 987–993.

Clarisse O., Dimock B., Hintelmann H. and Best E. P. H. (2010). Predicting net mercury methylation in sediments using diffusive gradinet in thin films measurements. Environ. Sci. Technol. 45 (4), 1506-1512.

Clarisse O., Lotufo G.R., Hintelmann H. and Best E.P.H. (in press) Biomonitoring and assessment of monomethylmercury exposure in aqueous systems using the DGT technique. Sci. Total Environ.

Cossa D., Coquery M., Nakhlé K., Claisse D. (2002) Dosage du mercure total et du monométhylmercure dans les organismes et les sédiments marins; IFREMER: Brest, 28 p.

Cossa, D., Averty, B., Bretaudeau, J., Senard, A.S. (2003) Spéciation du mercure dissous dans les eaux marines. Méthodes d'analyse en milieu marin. Technical report. Ifremer, France.

Darkangelo Wood C., Truby K., Stein J., Wiebe D., Holm E., Wendt D., Smith C., Kavanagh C., Montemarano J., Swain G. and Meyer A. (2000). Temporal and spatial variations in macrofouling of silicone fouling release coatings, Biofouling, 16, 311-322.

Davison W. and Zhang H. (1994) *In situ* speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. Nature, 367, 546-548.

Davison W. Zhang H, (2001) In situ speciation measurements using diffusive gradients in thin films (DGT) to determine inorganically and organically complexed metals. Pure and Applied Chemistry, 73, 9-15.

Divis P., Docekalova H. and Smetkova V. (2003) In situ measurement of depth profiles of labile metal species in sediments by technique of diffusive gradients in thin films. Chem. Listy 97, 1184–1189.

Divis P., Leermakers M., Dočekalová H. and Gao Y. (2005) Mercury depth profiles in river and marine sediments measured by the diffusive gradients in thin films technique with two different specific resins. Analytical and Bioanalytical Chemistry, Vol 382, 7,1715-1719.

Divis P., Szkandera R., Brulik L., Docekalova H., Matus P. and Bujdos M. (2009).Application of New Resin Gels for Measuring Mercury by Diffusive Gradients in a Thin-films Technique. Anal. Sci. 25, 575–578.

Divis P., Szkandera R. and Docekalova H. (2010) Characterization of sorption gels used for determination of mercury in aquatic environment by diffusive gradients in thin films technique. Cent. Eur. J. Chem., 8(5), 1105-1109.
Docekalova H. and Divis P. (2005) Application of diffusive gradient in thin films technique (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems. Talanta 65, 1174–1178.

Fernández-Gómez C., Dimock B, Hintelmann H. and Díez S. (2011) Development of the DGT technique for Hg measurement in water: Comparison of three different types of samplers in laboratory assays. Chemosphere 85 (2011) 1452–1457.

Fernández-Gómez C., Bayona J.M., Díez S. (2011) Laboratory and field evaluation of diffusive gradient in thin films (DGT) for monitoring levels of dissolved mercury in natural river water. Int. J. Environ. Anal. Chem, 1-10.

Gao Y., De Canck E., Leermakers M., Baeyens W. and Van Der Voort P. (2011) Synthesized mercaptopropyl nanoporous resins in DGT probes for determining dissolved mercury concentrations. Talanta, 87, 262-267.

Gonzalez J-L., Tapie N., Budzinski H., Guyomarch J., Crenn V., Bretaudeau-Sanjuan J. (2009a). Première évaluation des niveaux de contamination chimique des eaux littorales guyanaises dans le cadre de la préparation du volet "chimie" du contrôle de surveillance DCE - campagne Novembre 2008. Rapport final, Convention IFREMER / DIREN Guyane contrat n° 07/5 210 962/F, 42 p.

Gonzalez J-L., Tapie N., Munaron D., Budzinski H. (2009b). PROJET PEPS Méditerranée (Pré étude: Echantillonnage Passif pour la Surveillance de la contamination chimique). Rapport

Convention Cadre Ifremer / AERM&C Utilisation échantillonneurs passifs – Méditerranée - Contrat n° 08/3211080/F. Juin 2009, 90 p.

Gonzalez J-L., Turquet J., Cambert H., Budzinski H., Tapie N., Guyomarch J. et Andral B. (2009c). Mise en place d'échantillonneurs passifs pour la caractérisation de la contamination chimique des masses d'eau côtières réunionnaises: Campagnes Octobre 2008, Février 2009, PROJET PEPS La Réunion (Pré étude: Echantillonnage Passif pour la Surveillance de la contamination chimique), Rapport d'avancement. Juin 2009. 21 p.

Gonzalez J-L., Turquet J., Cambert H., Budzinski H., Tapie N., Guyomarch J. et Andral B. (2010) PROJET PEPS La Réunion (Pré étude: Echantillonnage Passif pour la Surveillance de la contamination chimique) : Mise en place d'échantillonneurs passifs pour la caractérisation de la contamination chimique des masses d'eau côtières réunionnaises. Rapport final, Convention IFREMER / DIREN n°07/1216859/TF. 89 p.

Gonzalez J-L., Munaron D., Sargian P., Guyomarch J., Van Ganse S., Andral B., Tomasino C. (2011a) Campagne DCE 2009: utilisation des échantillonneurs passifs (DGT, POCIS, SBSE) pour l'évaluation de l'état chimique de masses d'eau méditerranéennes. Rapport final, Convention IFREMER / Agence de l'Eau RMC. 52 p.

Gonzalez J-L., Tapie N., Guyomarch J., Budzinski H., Van Ganse S. et Luglia M. (2011b) PROJET PEPS *Guyane* - Evaluation de la contamination chimique des eaux guyanaises par les techniques d'échantillonnage passif: Application et soutien à la mise en place de la DCE Rapport final Campagne Octobre 2009. Convention IRD / IFREMER. N° réf 10/1218624/F.

Gonzalez J-L., Tapie N., Guyomarch J., Budzinski H. (2011c) PROJET PEPS Guyane - Evaluation de la contamination chimique des eaux guyanaises par les techniques d'échantillonnage passif: Application et soutien à la mise en place de la DCE. Campagnes Juillet et Novembre 2010. Convention IRD / Ifremer 2010.

Gourlay-Francé C. et Gonzalez J-L. (2010) Utilisation des échantillonneurs passifs pour l'évaluation de la contamination chimique des masses d'eaux. Techniques Sciences et Méthodes, n°3, 24-35.

Harman C., Tollefsen K.E., Bøyum O., Thomas K. and Grung M. (2008) Uptake rates of alkylphenols, PAHs and carbazoles in semipermeable membrane devices (SPMDs) and polar organic chemical integrative samplers (POCIS). Chemosphere, 72, Issue 10, 1510-1516.

Harman, C., Boyum O., Thomas K.V. and Grung M. (2009) Small but Different Effect of Fouling on the Uptake Rates of Semipermeable Membrane Devices and Polar Organic Chemical Integrative Samplers. Environmental Toxicology and Chemistry, 28(11), 2324-2332.

Henschel J.R. and Cook P.A. (1990) The development of a marine fouling community in relation to the primary film of microorganisms. Biofouling, 2, 1 –11.

Hintelmann H., Evans R.D. (1997) Application of stable isotopes in environmental tracer studies – measurements of monomethylmercury (CH_3Hg^+) by isotope dilution ICP-MS and detection of species transformation. Fresenius J. Anal. Chem., 358, 378–385.

Huckins J. N., Petty J. D., Lebo J. A., Almeida F. V., Booij, K., Alvarez D. A., Cranor W. L., Clark, R. C., Mogensen B. B. (2002). Development of the permeability/performance reference compound approach for in situ calibration of semipermeable membrane devices. Environ. Sci. Technol., 36 (1), 85–91.

Mazzella, N., Dubernet, J.-F., and Delmas, F. (2007) Determination of kinetic and equilibrium regimes in the operation of polar organic chemical integrative samplers: Application to the passive sampling of the polar herbicides in aquatic environments. J. Chromatogr. A 2007, 1154, 42-51.

Mazzella N., Lissalde S., Moreira S., Delmas F., Mazellier P., Huckins J.N. (2010) Evaluation of the use of performance reference compounds in an Oasis-HLB adsorbent based passive sampler for improving water concentration estimates of polar herbicides in freshwater. Environmental science technology, 44: 5, 1713-1719.

Mazzella N., M. Coquery, C. Miège, C. Berho, J.-P. Ghestem, A. Togola, J.-L. Gonzalez, C. Tixier, S. Lardy-Fontan (2011). Applicabilité des échantillonneurs passifs dans le cadre de la DCE. Rapport Final Aquaref, Action II-B01-Développement et optimisation des technologies innovantes de prélèvement et d'analyse, 80 p.

Pichette C., Zhang H., Davison W. and Sauvé S. (2007) Preventing biofilm development on DGT devices using metals and antibiotics. Talanta, 72, 2, 716-722.

Ramalhosa E., Río Segade S., Pereira E., Vale C. and Duarte A. (2006) Mercury cycling between the water column and surface sediments in a contaminated area, Water Research, Vol. 40, 15, 2893–2900

Togola A. and Budzinski H. (2007) Development of Polar Organic Integrative Samplers for Analysis of Pharmaceuticals in Aquatic Systems. Analytical Chemistry, 79, 6734-6741.

Turquet J., Nicet J-B., Cambert H., Denis Y., Gonzalez J-L., Bigot L., Guyomarch J., Budzinski H., Tapie N., Jamon A., Pribat B. (2010) Définition des réseaux de surveillance DCE de la qualité des masses d'eau côtières de l'île de Mayotte - Rapport final Tome 1 Synthèse et propositions. N° HASAR091005-2.

Van Hullebusch, E.D., Zandvoort M.H., and Lens P.N. (2003) Metal immobilisation by biofilms: Mechanisms and analytical tools. Reviews in environmental science and biotechnology, 2(1), 9-33.

Vrana B., Mills G.A., Allan I.J., Dominiak E., Svensson K., Knutsson J., Morrison G. and Greenwood R. (2005) Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. Trends in Analytical Chemistry, Vol. 24, No. 10, 845-868.

Webb J.A. and Keough M.J. (2000) The effects of two marinas on the composition of fouling assemblages. Biofouling, 16, 345 –360.

Webb J.A. and Keough M.J. (2002) Quantification of copper doses to settlement plates in the field using diffusive gradients in thin films. The Science of the Total Environment, 298, 207–217.

Wallner-Kersanach M. de Andrade C.F.F., Zhang H., Milania M.R. and Niencheskia L.F.H. (2009) In situ Measurement of Trace Metals in Estuarine Waters of Patos Lagoon using Diffusive Gradients in Thin Films (DGT). J. Braz. Chem. Soc., Vol. 20, 2, 333-340.

Zhang H. and Davison W. (1995) Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. Analytical Chemistry, 67, 19, 3391-3400.

Zhang H. and Davison W. (1999) Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. Analytica Chimica Acta, 398, Issues 2–3, 329–340.

Zhang H., Davison W. (2000) Direct In Situ Measurements of Labile Inorganic and Organically Bound Metal Species in Synthetic Solutions and Natural Waters Using DGT. Anal. Chem. 72, 4447-4457.

Zhang H., Davison W. (2001) In situ speciation measurements. Using diffusive gradients in thin films (DGT) to determine inorganically and organically complexed metals. Pure Appl. Chem. 73, 9-15.

8. Annexes

ANNEXE 1

Liste des pesticides échantillonnées par la technique POCIS et analysés

124 dichloro phénylurée
134 dichloro phénylurée (dcpu)
134 dichlorophényl 3 methyl urée (dcpmu)
acetochlor
acetochlor ESA
acetochlor OA
acrinathrine
alachlor
amethryn
atrazine
atrazine 2 hydroxy
azoxystrobine
bentazone
bifenthrine
carbendazime
carbetamide
carbofuran
carbosulfan
chlorfenvinphos
chlormephos
chlorothalonil
chlorotoluron
chlorpyrifos-ethyl
chlorpyrifos-methyl
chlorsulfuron
cyanazine
cyfluthrine A/B/C/D
cypermethrine A/B/C/D
cyromazine
DEA
deltamethrine
DIA
diazinon
dichlofluanide
dichlorvos
Difenoconazole A/B
diflufénican
dimetachlore
dimethoate
diuron
DMSA
DMST

epoxiconazole
ethropophos
famoxadone
fenbuconazole
fenithrothion
fenvalerate+esfenvalerate A/B
flazasulfuron
fluazifop-p-butyl
fluquinconazole
flusilazole
flutriafol
hexaconazole
hexazinone
hydroxysimazine
imazalil
imidacloprid
irgarol
isoproturon
lambda-cyhalothrine
linuron
malathion
metazachlor
metconazole
methiocarb
metolachlore
metolachlore ESA
metolachlore OA
metoxuron
metsulfuron-méthyl
nicosulfuron
penconazole
permethrine A/B
phosalone
phosmet
promethrin
propachlor
propazine
propiconazole
prosulfuron
pymethrozine
quizalofop-ethyl
quizalofop-p-téfuryl

simazine
tau-fluvalinate A/B
tebuconazole
temephos
terbuthrin
terbuthylazine
terbutylazine desethyl
tetraconazole
thiamethoxan
tolclophos-methyl
tolylfluanide
triadimefon
triadimenol A/B
trichlorfon