

Contribution à l'optimisation de la technique POCIS : amélioration de la quantification du dichlorvos (dans le cadre de la DCE) et développement d'une nouvelle géométrie POCIS

Gonzalez J-L., Tapie N., Dufour V., Pardon P., Budzinski H.



Janvier 2021

Rapport Final

En partenariat avec

Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme scientifique et technique AQUAREF pour l'année 2018, dans le cadre du thème FG "Nouveaux outils et connaissances pour optimiser les stratégies de surveillance".

Auteurs :

Jean-Louis Gonzalez

*Ifremer, Département RBE Unité "Biogéochimie et Ecotoxicologie" Centre de Méditerranée, ZP de Brégaillon CS 20330- 83507 La Seyne/mer cedex
jean.louis.gonzalez@ifremer.fr*

Nathalie Tapie, Vincent Dufour, Patrick Pardon, Hélène Budzinski

*EPOC UMR 5805 LPTC (L'équipe de de "Physico- et Toxico-Chimie de l'Environnement"), Université Bordeaux, 351 cours de la Libération, 33405 Talence
nathalie.tapie@u-bordeaux.fr ; helene.budzinski@u-bordeaux.fr*

Vérification du document :

Lauriane GREAUD

INERIS

Lauriane.greaud@ineris.fr

Les correspondants

OFB : Pierre-François Staub, pierre-francois.staub@ofb.gouv.fr

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

Ifremer : Anne Grouhel, Anne.Grouhel@ifremer.fr Ifremer, RBE, Unité Biogéochimie et Ecotoxicologie
- Rue de l'Île d'Yeu, BP 21105, 44311 Nantes Cedex 03

Référence du document : Gonzalez J-L., Tapie N., Dufour V., Pardon P., Budzinski H - Contribution à l'optimisation de la technique POCIS : amélioration de la quantification du dichlorvos (dans le cadre de la DCE) et développement d'une nouvelle géométrie POCIS. Rapport Final AQUAREF 2018 - 30p.

Droits d'usage :	<i>Accès libre</i>
Couverture géographique :	<i>International</i>
Niveau géographique :	<i>National</i>
Niveau de lecture :	<i>Professionnels, experts</i>
Nature de la ressource :	<i>Document</i>

1. CONTEXTE	6
2. AMELIORATION DE LA METHODOLOGIE ANALYTIQUE	7
2.1. Optimisation des paramètres en spectrométrie de masse	7
Optimisation des transitions de quantification (TQ) et de confirmation (TC)	7
Optimisation des paramètres de sources	8
2.2. Optimisation des paramètres de chromatographie liquide	9
Optimisation de la nature de la phase éluante	9
Optimisation des conditions chromatographiques	11
Optimisation du volume d'injection et la nature du solvant d'injection	12
2.3. Performances analytiques de la méthode développée	13
Linéarité de la réponse.....	13
Limite de quantification de la méthode analytique	13
3. AMELIORATION DE LA METHODOLOGIE ECHANTILLONNAGE ET D'EXTRACTION: CALIBRATION DE L'OUTIL POCIS POUR LE DICHLORVOS	13
3.1. Principe d'échantillonnage par les POCIS.....	13
3.2. Calibration des POCIS pour l'échantillonnage du dichlorvos	16
3.3. Amélioration de la limite de quantification du dichlorvos via l'échantillonnage POCIS	18
4. APPLICATION ENVIRONNEMENTALE DE LA METHODOLOGIE ECHANTILLONNAGE ET D'EXTRACTION: EXPOSITION EN RIVIERE ET EN MILIEU MARIN.....	19
4.1. Stratégie d'échantillonnage	19
4.2. Tests préliminaires par ajout dosé sur un échantillon réel	20
4.3. Extraction des POCIS	21
4.4. Résultats	22
4.4.1. Contrôle qualité dichlorvos	22
4.4.2. Concentration en dichlorvos et LOQ.....	23
4.4.3. Résultats des analyses de pesticides et composés pharmaceutiques.....	23
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	28
6. BIBLIOGRAPHIE	29

Liste des annexes :

RESUME

La Directive Cadre sur l'Eau (DCE) a défini des Normes de Qualité Environnementale (NQE) pour les substances identifiées comme prioritaires. Parmi les substances ciblées, le dichlorvos, insecticide acaricide aujourd'hui interdit en France pose un challenge analytique car sa NQE est très faible (NQE eau douce : 0,6 ng/L, NQE eau marine : 0,06 ng/L, ce qui implique de pouvoir atteindre une limite de quantification (LQ) de 0,02 ng/L pour l'eau douce et 0,02 ng/L pour l'eau marine selon la directive QA/QC (2009/90/CE). L'objectif principal de ce travail est d'atteindre les limites de quantification visée à travers l'amélioration des techniques d'échantillonnage, d'extraction et d'analyse du dichlorvos.

L'analyse est faite en chromatographie en phase liquide. Le mode d'acquisition qui a été choisi pour le développement de la quantification du dichlorvos par spectrométrie de masse en tandem est le mode MRM (Multiple Reaction Monitor). Le type de source utilisée est une source à ionisation par électrospray (ESI : electrospray ionization source) en mode positif. L'amélioration de la méthodologie analytique a permis d'obtenir une limite de quantification instrumentale de 0,2 pg.inj.

En parallèle de l'amélioration de la méthodologie analytique, un travail particulier a été mené sur la calibration afin d'obtenir un taux d'échantillonnage pour le dichlorvos et le protocole d'extraction des échantillonneurs passifs de type POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler) a également été optimisé.

Les développements réalisés (LC/MS/MS) couplés aux capacités de concentration des échantillonneurs passifs de type POCIS ont été testés sur de la phase OASIS HLB supplémenté. Ces tests ont permis d'obtenir une limite de quantification théorique du dichlorvos à 0,9 pg/L (ou 0,0009 ng/L) pour une durée d'exposition de 15 jours.

Cependant la confrontation de ce protocole à des échantillons de POCIS exposés en milieu naturel et aux effets matriciels inhérents aux échantillons environnementaux montrent une limite de quantification effective variant entre $0,15 \pm 0,02$ et $0,36 \pm 0,16$ ng/L.

Ces performances analytiques obtenues sur les échantillons environnementaux sont juste compatibles avec le suivi du dichlorvos selon les performances demandées par les directives DCE: 2000/60/EC et QA/QC 2009/90/CE sur les eaux douces, mais ne sont à l'heure actuelle pas satisfaisantes pour les eaux marines. Une étape de purification de l'extrait serait à développer pour lever les effets matriciels impactant les performances de la méthodologie d'analyse.

Afin d'augmenter l'opérationnalité de la méthode (réduire les opérations préalables à la mise en place et suite à la récupération; limiter les risques de contamination; réduire le volume et le poids du système pour faciliter le stockage et diminuer les coûts de transport), les tests d'une nouvelle "géométrie" de cage ont été poursuivis (Gonzalez *et al*, 2012). Les résultats obtenus sont en accord avec l'étude précédente.

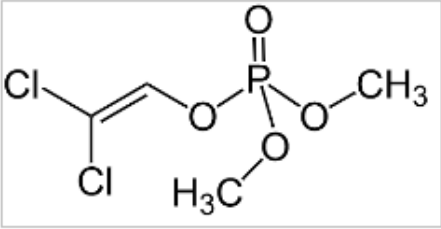
Mots clés (thématique et géographique) : DCE; échantillonneurs passifs; contaminants organiques; insecticides; Dichlorvos; LC/MS/MS; POCIS; nouvelle géométrie

1. CONTEXTE

La Directive Cadre sur l'Eau (DCE) (2000/60/EC) établit une politique communautaire pour la gestion des eaux intérieures de surface, des eaux souterraines, des eaux de transition (eaux estuariennes) et des eaux côtières. Cette directive a pour but de prévenir, de réduire la pollution des masses d'eau, de promouvoir leur utilisation durable, de protéger leur environnement, d'améliorer l'état des écosystèmes aquatiques et d'atténuer les effets des inondations et des sécheresses (Ineris, 2017). La DCE définit pour cela des Normes de Qualité Environnementale (NQE) pour les substances identifiées comme prioritaires. Parmi les substances ciblées, le dichlorvos, insecticide acaricide aujourd'hui interdit en France pose un challenge analytique car sa NQE est très faible (NQE eau douce : 0,6 ng/L, NQE eau marine : 0,06 ng/L (Tab.1). Ces NQE impliquent de pouvoir assurer une limite de quantification (LQ) de 0,02 ng/L selon la directive QA/QC (2009/90/CE). L'objectif principal de ce travail est d'atteindre les limites de quantification visées de 0,02 ng/L pour la NQE eau marine et 0,2 ng/L pour la NQE eau douce à travers l'amélioration des techniques d'échantillonnage, d'extraction et d'analyse du dichlorvos.

La logistique des campagnes réalisées dans cette étude, a été mise à profit pour poursuivre l'évaluation de l'importance du fouling sur les variations du taux d'échantillonnage (Gonzalez *et al*, 2012). Des tests de matériaux "anti-fouling" (cuivre) ont été poursuivis. Différents dispositifs d'immersion des POCIS ont été testés: cages inox "standard"; cages type "boite" (nouvelle géométrie testée) en cuivre, cette "géométrie" ne nécessite pas de supports de POCIS et devrait permettre 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).

Tableau 1: Propriétés physicochimiques du dichlorvos (d'après PPDB, 2017)

Dichlorvos	
Formule	Propriétés physico-chimiques
 Cas: 62-73-7 Code Sandre: 1170	Masse molaire: 221 Point d'ébullition: 234 °C Densité: 1.415 Pression de vapeur: 2.1 pa à 25°C Log Kow: 1,9 Log Koc: 1,57 Solubilité (eau): 18 g.L ⁻¹ Stabilité: stable à la chaleur stable en milieu acide rapidement hydrolysé en milieu alcalin

2. AMELIORATION DE LA METHODOLOGIE ANALYTIQUE

L'analyse du dichlorvos est réalisée en routine au sein de notre laboratoire par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse sur un couplage de type Agilent LC 1290 Infinity / 6460 Triple quadrupole équipé d'une source à ionisation par électrospray (ESI : electrospray ionization source). Le dichlorvos est analysé en mode positif (ESI+) au sein d'une méthode d'analyse multirésidu pour le suivi des pesticides dans les eaux continentales et marines (Belles, 2012; Dufour 2017). Le développement analytique du dichlorvos a été intégralement repris dans ces travaux afin d'adapter son analyse sur un appareil analytique plus récent présentant de meilleures performances analytiques, le couplage Agilent LC 1290 Infinity / 6490 Triple quadrupole.

2.1. Optimisation des paramètres en spectrométrie de masse

Optimisation des transitions de quantification (TQ) et de confirmation (TC)

Le mode d'acquisition choisi pour le développement de la quantification du dichlorvos par spectrométrie de masse en tandem est le mode MRM (Multiple Reaction Monitor). Le type de source utilisée est une source à ionisation par électrospray (ESI : electrospray ionization source) en mode positif.

En premier lieu, 5µL d'une solution concentrée de dichlorvos ($1 \mu\text{g.g}^{-1}$) ont été injectés afin d'obtenir le spectre de masse de la molécule. Le spectre obtenu présente deux ions majoritaires correspondant à l'ion pseudo-moléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ et liés aux 2 formes isotopiques du chlore contenu dans la molécule ^{35}Cl et ^{37}Cl respectivement $m/z=221$ et $m/z=223$ (Fig. 1).

Afin de pouvoir travailler en mode MRM pour la quantification du dichlorvos, des ions fils ont été recherchés à partir de ces deux ions parents. Les transitions de quantification (TQ) et de confirmation (TC) ont été optimisées pour permettre le dosage fiable du dichlorvos selon la directive (2002/657/CE). Les transitions retenues après optimisation sont respectivement TQ : $221,0 > 109,0$ et TC : $223,0 > 108,9$. Le rapport d'aire entre les deux transitions est d'environ 1,6% (Tab. 2).

Il a été aussi nécessaire d'optimiser le signal lié à l'étalon interne associé au dichlorvos pour la quantification, le dichlorvos d6. La méthode d'analyse pour ce dernier a donc été également développée selon la méthodologie présentée précédemment et la transition de quantification retenue est la suivante : TQ : $227,0 > 115,0$.

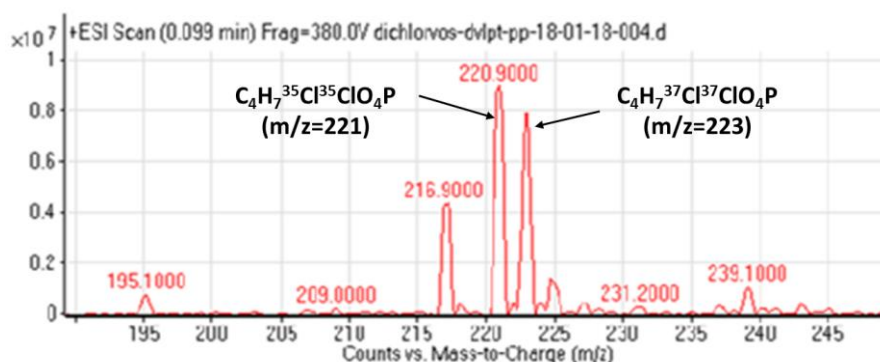


Figure 1: Spectre de masse du dichlorvos ($\text{C}_4\text{H}_7\text{Cl}_2\text{O}_4\text{P}$)

Tableau 2 : Transitions de quantification (TQ) et de confirmation (TC) retenues pour l'analyse du dichlorvos et de son étalon interne dichlorvos d6.

Molécules	Ionisation	TQ	CE (TQ)	TC	CE (TC)
dichlorvos	ESI +	221,0>109,0	16	223,0>108,9	16
dichlorvos D6 (ISTD)	ESI +	227,0>115,0	16	-	-

Optimisation des paramètres de sources

Les paramètres de source pour l'analyse du dichlorvos ont été réoptimisés à partir de paramètres de la méthode de screening multirésidus pour l'analyse des pesticides du laboratoire (Belles *et al.* 2012; Cruz, 2015; Dufour, 2017). Le schéma de principe du spectromètre de masse est donné dans la figure 2 et les paramètres optimisés sont donnés dans le tableau 3.

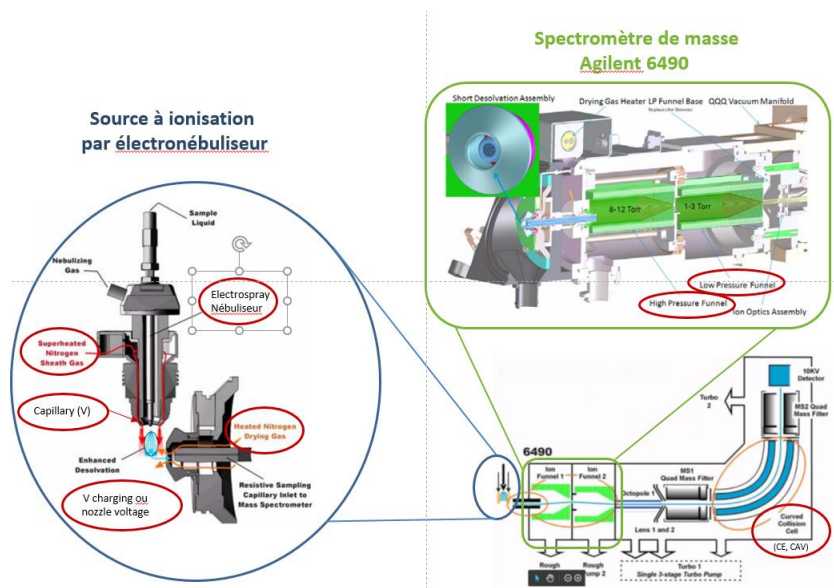


Figure 2 : Schéma de principe du spectromètre de masse Agilent 6490

Tableau 3 : Paramètres de spectrométrie de masse retenus pour l'analyse du dichlorvos

Paramètres	Valeurs (+)
Température gaz de désolvation (Gas Temp) (°C)	200
Débit gaz de désolvation (Gas Flow) (l.min ⁻¹)	20
Pression de nébulisation (Nebulizer) (psi)	30
Température du gaz fourreau (SheathGasHeater) (°C)	200
Débit du gaz fourreau (Sheath Gas Flow) (ml.min ⁻¹)	12
Tension capillaire (Capillary) (V)	3000
Tension de charge V Charging ou nozzle voltage (V)	300
Tension des filtres à ion (High and Low Pressure Funnel) (V)	HP 200 / LP 110

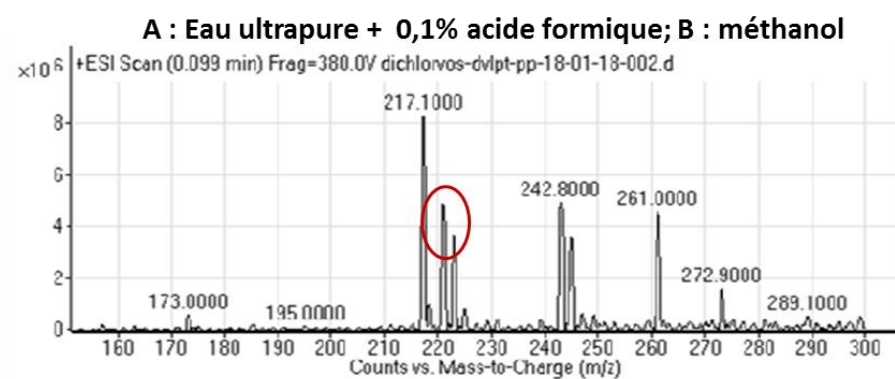
2.2. Optimisation des paramètres de chromatographie liquide

Optimisation de la nature de la phase éluante

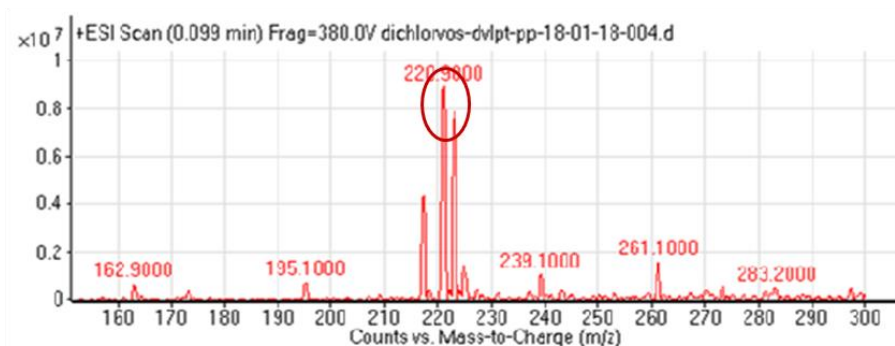
La phase éluante classiquement utilisée dans la méthode multirésidus qui a servi de base au développement est un mélange de deux phases, (i) une phase aqueuse notée A composée d'eau ultrapure acidifiée à 0,1 % acide acétique et supplémentée avec 5 mmol acétate d'ammonium et (ii) une phase organique notée B, le méthanol (Belles, 2012; Dufour, 2017).

Afin de développer une méthode d'analyse spécifique du dichlorvos et d'obtenir la meilleure sensibilité pour le composé, la composition de la phase mobile a été spécifiquement ré-optimisée sur la réponse des ions moléculaires $[M+H]^+$ ($m/z = 221$ et 223). La nature de l'acide utilisée pour acidifier la phase aqueuse a été testée démontrant qu'une acidification par l'acide formique améliore la réponse du dichlorvos. De la même façon, l'intérêt de la supplémentation de la phase aqueuse en acétate d'ammonium a été confirmé. L'ajout d'acétate d'ammonium permet d'éliminer la formation d'adduits sodium et de privilégier les ions pseudo-moléculaires retenus. La nature de la phase organique a été également testée confirmant l'intérêt du méthanol. Les différents spectres de masse obtenus sont présentés dans la figure 3. En conclusion, le couple de phase permettant la meilleure réponse du dichlorvos est :

- Phase A : Eau ultrapure acidifiée avec 0,1% d'acide formique + 5 mmol d'acétate d'ammonium
- Phase B : Méthanol



A : Eau ultrapure + 0,1% acide formique + 5mmol Acétate d'ammonium ; B : méthanol



A : Eau ultrapure + 0,1% acide formique; B : acétonitrile

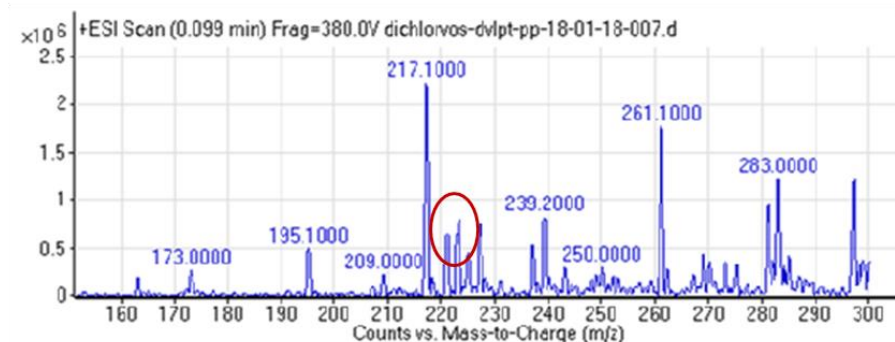


Figure 3 : Spectre de masse obtenu après injection du dichlorvos avec différentes natures de phases mobiles (A: Phase aqueuse; B: phase organique). Les ions moléculaires $[M+H]^+$ $m/z = 221$ et 223 ont été entourés en rouge pour plus de lisibilité.

Optimisation des conditions chromatographiques

La colonne sélectionnée pour l'analyse du dichlorvos est une colonne C18 de 10 cm et de 2,1 mm de diamètre interne et de granulométrie 1,7 μ m (Kinetex C18, 1.7 μ m, 100 x 2.1 mm). La température de la colonne a été fixée à 45°C et le débit de la phase mobile à 0,5 mL.min⁻¹. La méthode d'analyse spécifique du dichlorvos ne présentant pas d'enjeux majeurs de séparation de composés un gradient d'analyse classiquement utilisé pour les analyses monocomposés au sein du laboratoire a été appliqué (Tab. 4).

Tableau 4 : Gradient chromatographique appliqué pour l'analyse du dichlorvos (Phase A : Eau ultrapure acidifié avec 0,1% d'acide formique + 5 mmol d'acétate d'ammonium ; Phase B : méthanol)

Temps	Phase A	Phase B
0 min	90%	10%
7 min	0%	100%
8.5 min	0%	100%
9 min	90%	10%
11 min	90%	10%

Optimisation du volume d'injection et la nature du solvant d'injection

La nature et le volume du solvant d'injection ont été testés afin de définir leur influence sur la résolution chromatographique du pic de la transition de quantification du dichlorvos (TQ : 221>109). Les tests réalisés (Fig. 4) montrent une déformation du pic chromatographique lorsque le dichlorvos est injecté dans le méthanol dans un volume supérieur à 5 μL . Aucune déformation n'est à noter pour une injection du composé dans l'eau pour des volumes de 5 et 10 μL .

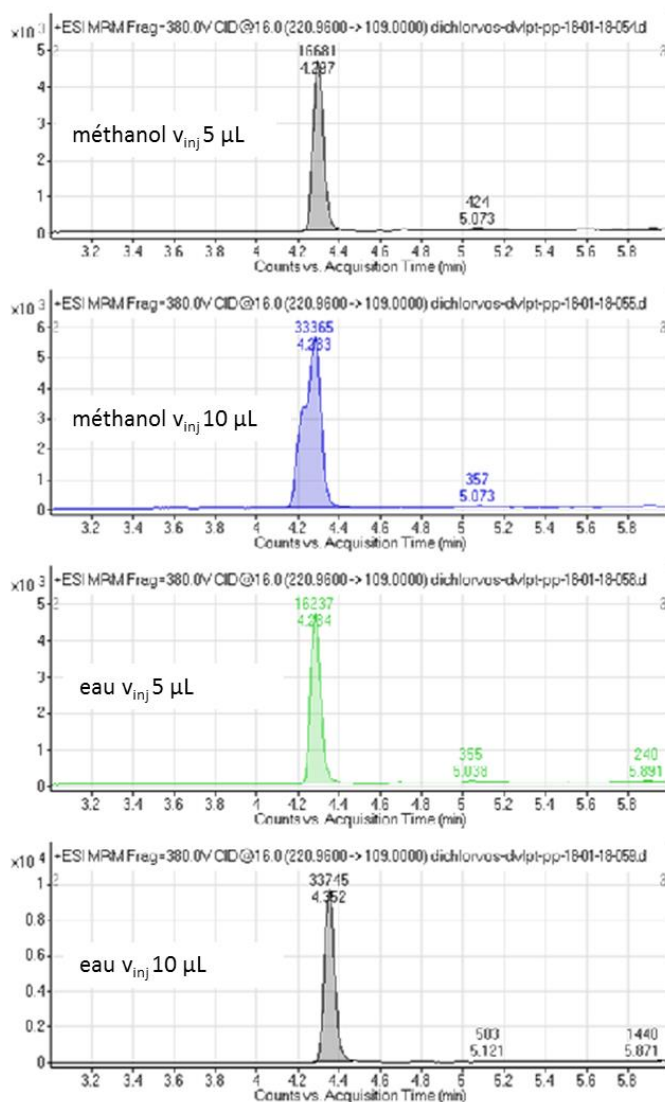


Figure 4 : Influence de la nature du solvant et du volume d'injection sur la résolution chromatographique avec comme signal la transition de quantification du dichlorvos (TQ 221 > 109).

2.3. Performances analytiques de la méthode développée

Linéarité de la réponse

La linéarité de la réponse a été testée pour les deux solvants d'injection eau et méthanol sur une gamme de calibration dynamique qui couvre 3 ordres de grandeur que ce soit pour le dichlorvos ou son étalon interne le dichlorvos D6. La réponse du couplage LC/MS/MS pour le dichlorvos est présentée dans la [figure 5](#) et démontre la grande linéarité de la réponse quel que soit le solvant d'injection choisi.

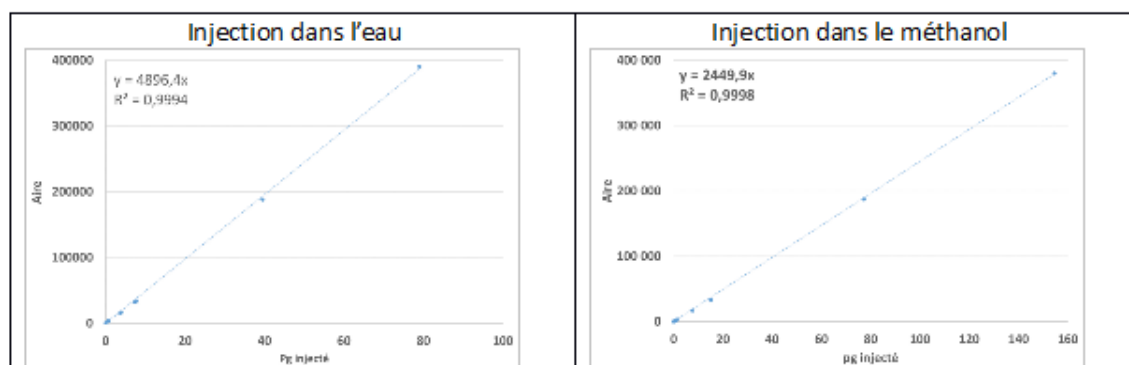


Figure 5 : Linéarité de la réponse du dichlorvos injecté dans l'eau et dans le méthanol.

Limite de quantification de la méthode analytique

La limite de quantification pour le dichlorvos a été calculée à partir de l'injection de solutions étalons de dichlorvos à des concentrations proches de la limite de quantification. La limite de quantification a été calculée comme étant la plus petite quantité de dichlorvos injectée dans le couplage LC/MS/MS (Agilent LC 1290 Infinity / 6490 Triple quadrupole) présentant un rapport signal sur bruit égal à 10. Le mode de calcul retenu pour le calcul du bruit est le mode agilent « peak to peak » qui prend en compte la hauteur maximale du bruit sur la zone sélectionnée et la hauteur maximale du pic de dichlorvos sur la transition retenue. Ce mode de calcul a été sciemment choisi pour maximiser le bruit et donc maximiser la limite de quantification, tout autre mode de calcul conduirait à une LQ inférieure. Les limites de quantification obtenues dans les deux solvants d'injection (eau et méthanol) sont du même ordre de grandeur soit 0,2 pg injecté.

3. AMELIORATION DE LA METHODOLOGIE ECHANTILLONNAGE ET D'EXTRACTION: Calibration de l'outil POCIS pour le dichlorvos

En parallèle de l'amélioration de la méthodologie analytique un travail particulier a été mené sur la calibration et l'amélioration de l'extraction des échantillonneurs passifs de type POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler).

3.1. Principe d'échantillonnage par les POCIS

Les POCIS sont des échantillonneurs passifs intégratifs utilisés pour le suivi des contaminants hydrophiles ($1 < \log K_{ow} < 4$). Les POCIS ([Fig. 6](#)) permettent d'échantillonner la fraction dissoute de ces contaminants et *a priori* disponible pour les êtres vivants sur des périodes de temps allant de quelques jours à plusieurs semaines. Cet outil permet d'accéder la concentration moyenne des contaminants sur la durée totale de l'exposition (TWA

concentration : Time Weighted Average concentration). Les POCIS sont classiquement composés d'une phase adsorbante/adsorbante solide emprisonnée entre deux membranes de polyéthersulfone (PES).

Ces membranes présentent des diamètres de pores de 0,1 µm permettant le passage des contaminants vers la phase adsorbante. Le dichlorvos de par ses propriétés physico chimiques (Log Kow : 1,9 Tableau 1) est un bon candidat à l'échantillonnage par les POCIS.

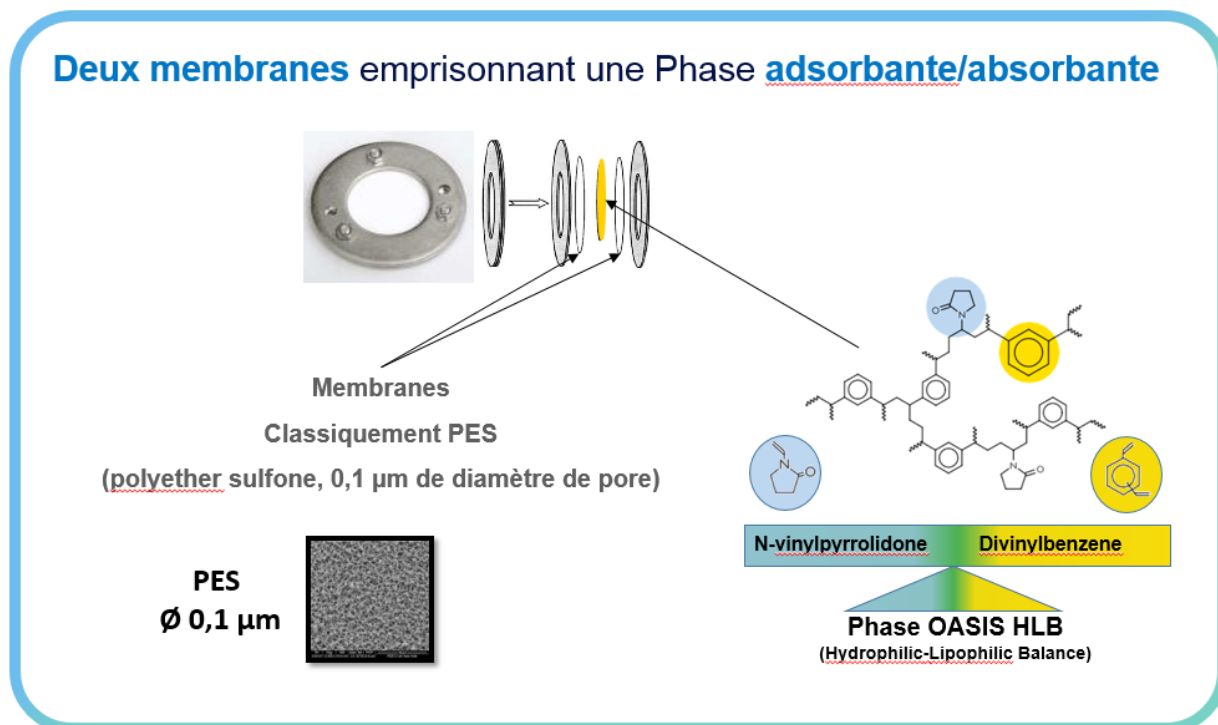


Figure 6: POCIS (Polar Organic Chemical Integrative Sampler).

L'accumulation des analytes d'intérêt suit une cinétique de premier ordre où la quantité d'analytes accumulée dans le POCIS durant la phase d'accumulation linéaire est proportionnelle à la concentration dans l'eau (Fig. 7).

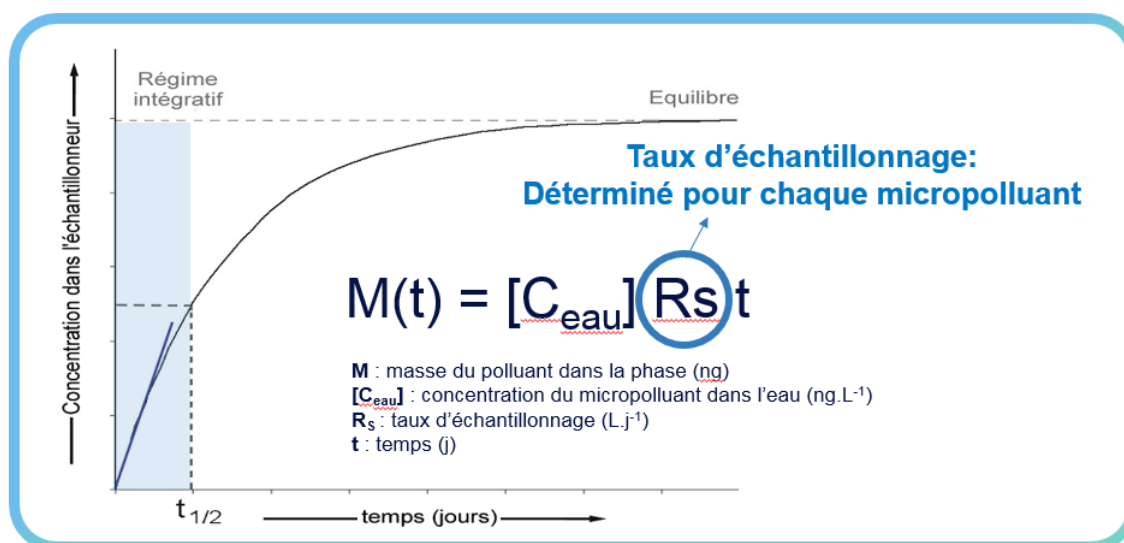


Figure 7 : Principe d'accumulation des analytes dans le POCIS.

Le taux d'échantillonnage (Rs) de l'outil 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) :

$$M_{\text{pocis}} = [C_{\text{eau}}] \times R_s \times t$$

Où M_{pocis} : Masse de composé dans le POCIS (ng)

$[C_{\text{eau}}]$: Concentration moyenne dans l'eau pendant la période d'exposition (ng/L)

R_s : Taux d'échantillonnage ($L \cdot j^{-1}$)

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 connaître le temps d'exposition (t) et le taux d'échantillonnage (R_s) de chaque molécule ciblée. Traditionnellement, le taux d'échantillonnage R_s est déterminé en laboratoire en conditions contrôlées pour chaque analyte, et les valeurs de R_s obtenues en laboratoire sont utilisées pour calculer les concentrations *in situ* des composés ciblés. Cependant le R_s est soumis à des variations en fonction des conditions du milieu (courant, turbulence, température, biofouling, salinité...) et peut varier selon les conditions environnementales.

Afin d'améliorer l'aspect quantitatif de l'échantillonnage par les POCIS l'approche PRC (Performance Reference Compound) a été utilisée (Huckins *et al.*, 2002, Mazzella *et al.*, 2007). Les PRC sont des molécules non interférentes, isotopiquement substituées dont la désorption durant la période d'exposition permet de calculer un taux d'échantillonnage *in situ* (R_s *in situ*). Une seule molécule PRC est utilisée en routine la DIA d5 (déisopropyl-atrazine d5). Ce PRC a été validé en eau douce par Mazzella *et al.* (2007, 2010) et validée en eau de mer lors de la thèse d'Angel Belles (Belles *et al.*, 2014). La caféine ^{13}C et le Salbutamol d3 ont également été ajoutés dans le cadre de ce travail. Par hypothèse, les échanges au niveau des POCIS étant considéré comme isotrope, la désorption des PRC durant la période d'exposition va permettre le calcul d'une constante de désorption (k_e) pour chaque PRC. Les constantes de désorption k_e et les taux d'échantillonnage R_s calculés en conditions contrôlées vont constituer des couples de références permettant le calcul de R_s *in situ* déterminés à partir des k_e *in situ* des POCIS exposés (Fig. 8).

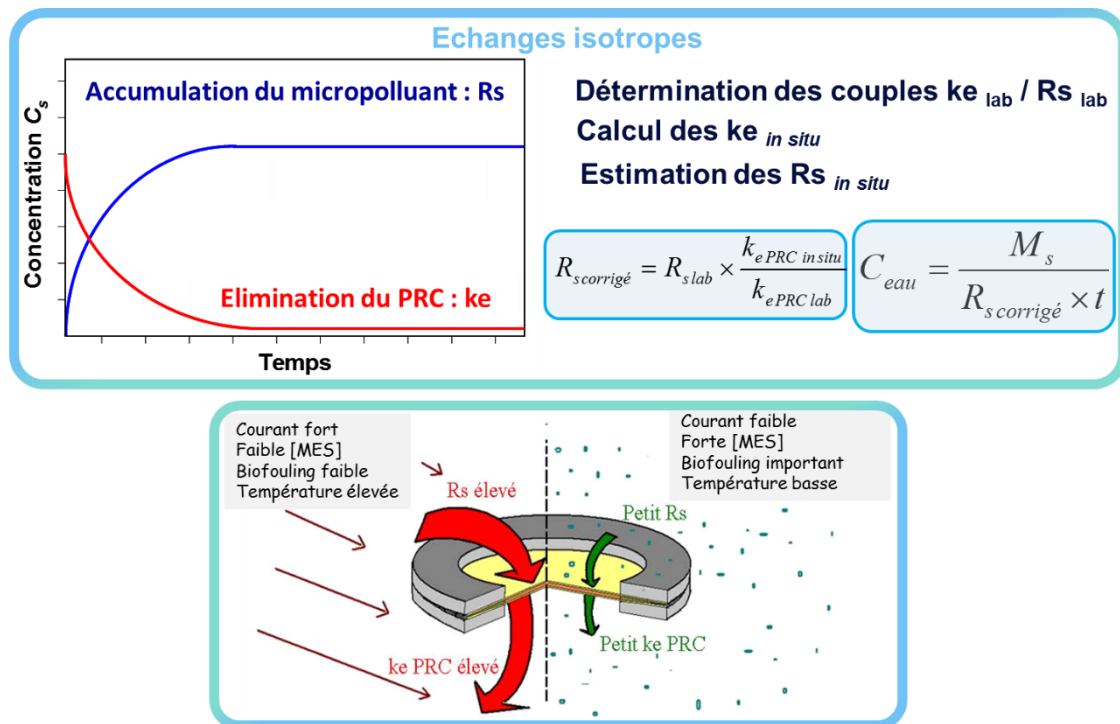


Figure 8 : Principe de la quantification par les PRC (Performances Reference Compounds)

L'introduction de PRC et le suivi de leur désorption de l'échantillonneur vers le milieu va permettre de calculer la constante de désorption k_e des PRC *in situ*. Cette constante k_e est directement corrélée au R_s et varie en fonction des conditions du milieu, plus le k_e est faible plus le R_s sera faible, et inversement (Fig. 8). L'obtention de cette constante dans les conditions environnementales permet ensuite par comparaison aux valeurs de R_s et aux k_e obtenues durant les calibrations en laboratoire de déterminer un R_s *in situ*. Ce R_s *in situ* déterminé dans les conditions d'exposition du terrain va permettre de déterminer la concentration des composés ciblés dans le milieu, exprimée en ng/L.

3.2. Calibration des POCIS pour l'échantillonnage du dichlorvos

Afin de déterminer le taux d'échantillonnage du dichlorvos par les POCIS, une calibration a été menée en conditions contrôlées en laboratoire sur 15 jours d'exposition (Fig. 9). La calibration des POCIS pour le dichlorvos a été réalisée en flux continu (50% de renouvellement par jour) dans des systèmes d'exposition de 30 L (Dufour, 2017). La concentration nominale d'exposition des POCIS par le dichlorvos est de 1 µg/L, sous agitation permanente (pale en inox - 80 RPM). Le renouvellement du milieu a été assuré par un apport constant en eau via une pompe péristaltique et un apport continu d'une solution de contamination 1 µg.g⁻¹ à l'aide d'un pousse-seringue. Le surplus d'eau renouvelé chaque jour a été stocké dans un aquarium tampon et épuré par une pompe à charbon actif en grains avant le rejet vers le réseau d'assainissement. La température de la pièce était maintenue constante et l'expérience a été conduite à l'obscurité afin de limiter la formation de biofilms dans les aquariums. Lors de cette calibration le milieu d'exposition a été caractérisé quotidiennement, et des triplicats de POCIS ont été prélevés et analysés à différents temps : T1, T2, T3, T5, T8, T15.

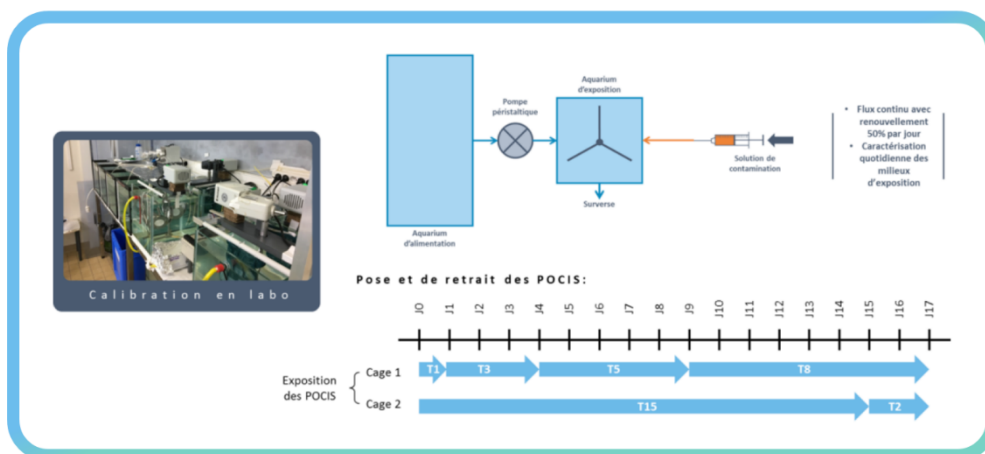


Figure 9 : Plan expérimental de la calibration des POCIS pour l'échantillonnage du dichlorvos.

Les analyses d'eau journalières et l'analyse du dichlorvos dans les POCIS exposés ont permis de définir la cinétique d'accumulation du dichlorvos dans les POCIS (Fig. 10). Un modèle de régression linéaire a été appliqué sur la base des recommandations de [Booij et al. \(2007\)](#); [Dufour, 2017](#)). Ce modèle de régression a permis d'obtenir un taux d'échantillonnage pour le dichlorvos via les POCIS de $0,156 \pm 0,008 \text{ L.j}^{-1}$. Ce Rs a également été associé aux constantes de désorption des PRC testés la DIA d5, Caféine 13C et le salbutamol d3 (Tab. 5).

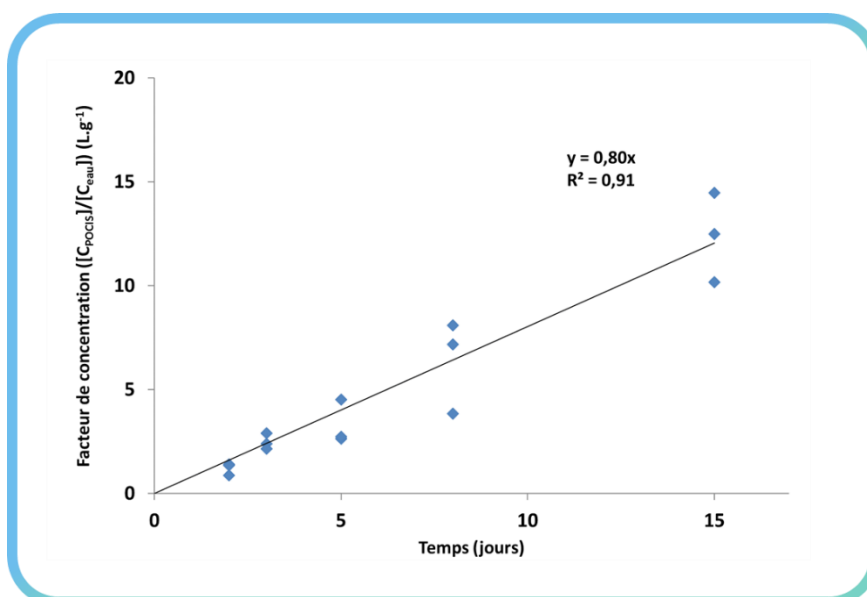


Figure 10 : Accumulation du dichlorvos dans les POCIS lors de la calibration en laboratoire (Dufour, 2017).

Tableau 5 : Taux d'échantillonnage et constante de désorption des PRC associés (Dufour, 2017)

Rs dichlorvos (L.j ⁻¹)	Ke DIA d5 (j ⁻¹)	Caféine 13C (j ⁻¹)	Salbutamol d3 (j ⁻¹)
0,156 ± 0,008	0,040 ± 0,004	0,048 ± 0,007	0,046 ± 0,004

3.3. Amélioration de la limite de quantification du dichlorvos via l'échantillonnage POCIS

Les POCIS sont classiquement utilisés par notre laboratoire pour réaliser des screening multicomposés, permettant à partir d'une seule extraction d'analyser entre 50 et 100 molécules (Belles, 2012; Dufour, 2017). Afin d'abaisser la limite de quantification du dichlorvos nous avons ré-optimisé notre protocole d'extraction pour ne cibler qu'un seul composé. La phase POCIS est transférée dans une cartouche SPE en verre de 6 mL, séchée puis éluée avec 2 x 5 mL de méthanol, 2 x 5 mL d'un mélange méthanol/dichlorométhane, et 2 x 5 mL de dichlorométhane (Belles 2012; Dufour, 2017). Ce protocole d'élution permet d'extraire de nombreux micropolluants accumulés par les POCIS comme les pesticides, les pharmaceutiques, les stupéfiants ou encore les alkylphénols et de les récupérer dans un extrait organique de 30 mL pouvant être reconcentré et aliquoté pour différentes filières analytiques. Dans le cadre du développement pour le dichlorvos, l'extrait organique est reconcentré jusqu'à un volume de 50 µL de méthanol pour l'injection en LC/MS/MS afin d'obtenir la meilleure limite de détection. La limite de détection analytique dans le méthanol étant de 0,2 pg injecté et le volume maximal d'injection dans le méthanol de 5 µL. Notre méthodologie nous permet donc de détecter une quantité de dichlorvos de 2 pg (les effets de matrice et interférences sur cette LQ seront testés lors des mesures in situ prévues dans le projet) dans les 50 µL d'extrait de POCIS, soit une quantité de dichlorvos 2 pg dans un POCIS. Cette quantité de dichlorvos accumulée dans le POCIS peut être transformée en concentration minimale détectée dans le milieu d'exposition. En prenant comme référence le taux d'échantillonnage défini précédemment pour le dichlorvos de 0,156 L.j⁻¹ et un temps d'exposition théorique des POCIS de 15 jours, la concentration quantifiable minimale théorique dans le milieu est de 0,9 pg/L. Cette limite de quantification largement inférieure à la valeur cible de 20 pg/L demandée par les directives Cadre sur l'Eau (DCE) (2000/60/EC) et directive QA/QC (2009/90/CE) devrait permettre de suivre de façon efficace le dichlorvos dans les eaux marines.

4. APPLICATION ENVIRONNEMENTALE DE LA METHODOLOGIE ECHANTILLONNAGE ET D'EXTRACTION: Exposition en rivière et en milieu marin

4.1. Stratégie d'échantillonnage

Afin de tester le protocole développé, des POCIS ont été exposés en milieu marin et en rivière. La première campagne a été réalisée sur le site de Lazaret (Rade de Toulon) du 23 Octobre au 6 Décembre 2018. Lors de la deuxième campagne, du 6 au 27 mai 2019, les POCIS ont été immergés dans la rivière du Las (rivière traversant un milieu très urbanisé: Toulon) et à son embouchure dans la Rade de Toulon (Fig. 11).



Figure 11 : Localisation des sites d'immersion.

La logistique a été mise à profit pour poursuivre l'évaluation de l'importance du fouling sur les variations du taux d'échantillonnage (Gonzalez *et al*, 2012). Des tests de matériaux "anti-fouling" (cuivre) ont été réalisés et permettront de comparer les résultats obtenus, sur des sites différents. Différents dispositifs d'immersion des POCIS ont été testés: cages inox "standard" ExposMeter AB (Tavelsjö, Sweden) avec des supports de POCIS en inox; cages ExposMeter avec des supports de POCIS en cuivre; cages type "boite" (conception interne) en cuivre, cette "géométrie" ne nécessite pas de supports de POCIS (Fig. 12).

Campagne 1: site "Lazaret":

Cage "standard" inox + supports POCIS inox (n=6): 21j	Cage "standard" inox + supports POCIS inox (n=6): 23j
---	---

Cage "standard" inox + supports POCIS inox (n=3): 44j

Cage "boite" cuivre (n=6): 21j

Cage "boite" cuivre (n=6): 23j

Cage "boite" cuivre (n=3): 44j



Campagne 2

Site rivière "Le Las"

Cage "standard" inox + supports POCIS inox (n=2): 21j

Site embouchure de la rivière dans la rade de Toulon

Cage "cuivre" + supports POCIS cuivre (n=2): 21j
--

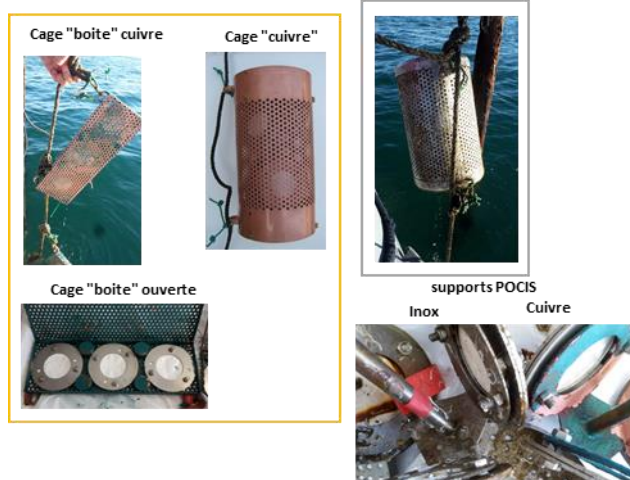


Figure 12 : Stratégie d'échantillonnage lors des campagnes de 2018 et 2019. Matériel testé [Réplicats: n=6: 3 POCIS pour dichlorvos et 3 pour pesticides + pharmaceutiques; n=3: 2 POCIS pour dichlorvos et 1 pour pesticides + pharmaceutiques; n=2: 1 POCIS pour dichlorvos et 1 pour pesticides + pharmaceutiques].

Lors de ces campagnes, des POCIS ont aussi été immergés pour le suivi d'une liste de contaminants organiques plus large (pesticides et substances pharmaceutiques) afin de tester une éventuelle différence de réponse en fonction des dispositifs d'immersion utilisés (Inox/Cuivre). Les résultats obtenus seront présentés avec les résultats dichlorvos.

4.2. Tests préliminaires par ajout dosé sur un échantillon réel

Afin de confronter le protocole analytique à un extrait réel issu de l'extraction d'un POCIS, un extrait organique obtenu après élution d'un POCIS immergé sur le site de Lazaret pendant 23 jours a été supplémenté en dichlorvos. Cet extrait avait servi initialement à l'analyse des pesticides et des substances pharmaceutiques sur le site du Lazaret.

Une fraction de l'extrait final du POCIS "test Lazaret" (100 µL) a été prélevé et supplémentée avec 20µL d'une solution à 15 ng.g⁻¹ (soit un ajout d'environ 180 pg de dichlorvos). L'extrait supplémenté a été ensuite analysé sur le couplage Agilent LC 1290 Infinity / 6490Triple quadrupole selon la méthode initialement développée. Pour mémoire les transitions retenues pour le dichlorvos sur le développement sur les solutions standards sont TQ: 221 > 109 (16) et TC 223 > 108,9 (16).

Lors de l'analyse de l'extrait dopé les signaux obtenus sur ces transitions se sont avérés fortement interférés et bruités. Il a donc été décidé de refaire un test de toutes les transitions initialement développées pour le dichlorvos sur les standards sur cet extrait supplémenté afin d'obtenir une meilleure sensibilité (221>59,9 (CE 70), 221>78,9 (CE 28), 221>94,8 (CE 44), 223>207,1 (CE 16)).

Le meilleur compromis du rapport signal/bruit (Fig. 13) a été obtenu sur la transition 221>59,9 (CE 70). Cette transition a donc été retenue pour l'analyse des échantillons environnementaux comme transition de quantification (TQ) et la transition 221 > 109 (16) est conservée en transition de confirmation (TC). Ce choix permet d'obtenir des LOQ sur le TQ entre 0,5 et 1 pg inj et entre 20 et 30 pq inj sur la TC en fonction du facteur de dilution de l'extrait.

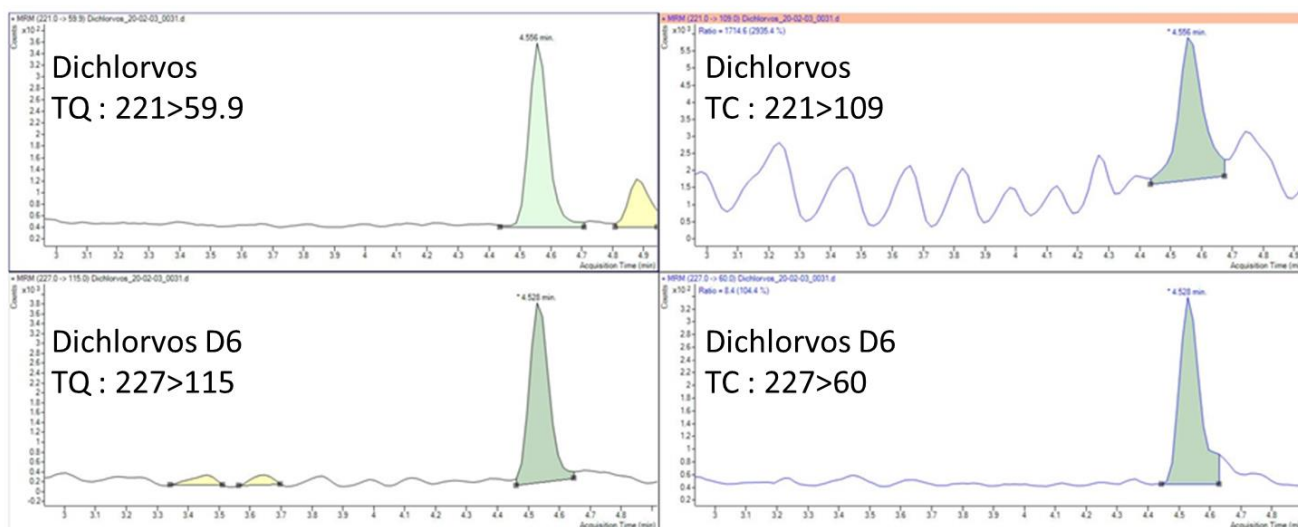


Figure 13: Chromatogrammes obtenus après injection d'un extrait de POCIS dopé avec 180 pg de Dichlorvos.

4.3. Extraction des POCIS

Pour l'analyse, les POCIS immergés sur les différents sites ont été ouverts afin de transférer la phase oasis HLB dans des cartouches en verre d'extraction en phase solide. Ces cartouches ont été préalablement calcinées à 450° pendant 6 heures pour éviter toute contamination et tarées afin de pouvoir déterminer la masse de phase Oasis HLB réellement transvasée. La phase des POCIS est ensuite éluée selon le protocole classique appliqué dans l'équipe (2*5 mL de MeOH, 2*5 mL d'un mélange MeOH/DCM, 2*5 mL de DCM) (Belles, 2012; Dufour, 2017). Afin de filtrer l'extrait organique, un filtre seringue en fibre de verre (Whatman, 0,45 µm GMF w/GMF) a été placé entre la cartouche contenant la phase et la cuve SPE. L'extrait organique ainsi filtré et récupéré dans un flacon de 60 mL contenant l'étalon interne (Dichlorvos D6) pour la quantification par dilution isotopique (Dufour, 2017). Il est ensuite reconcentré à l'aide d'un RapidVap® jusqu'à la réduction du volume final à environ 1 mL. L'extrait est ensuite évaporé sous flux d'azote (45°C) puis transféré dans le restricteur d'un flacon d'injection avant d'être ré-évaporé à 200 µL. Les extraits ont ensuite été injectés sur le couplage LC-MS/MS (Agilent LC 1290 Infinity / 6490 Triple quadrupole).

Les contrôles qualités classiques ont été appliqués :

- Blanc protocole
- Blancs POCIS
- Blancs d'injection entre chaque injection d'échantillon en LC-MS/MS
- Des triplicats échantillons POCIS supplémentés à 0,2 ng.g⁻¹ et 2 ng.g⁻¹ par gramme de phase OASIS HLB.

Les POCIS dédiés au test des dispositifs d'immersion (Inox/Cuivre) et à l'analyse des pesticides et substances pharmaceutiques ont été élués selon le même protocole que les "POCIS Dichlorvos". Les extraits ont ensuite été analysés par LC-MS/MS (Agilent LC 1260 Infinity / 6490 Triple quadrupole) par des méthodes spécifiques adaptés de [Dufour \(2017\)](#).

Les composés suivis en screening multirésidus par la méthode pesticides sont les suivants : 124 dichloro-phénylurée (dcpu), 134 dichloro-phénylurée (dcpu), 134 dichlorophényl 3 méthyl urée (dcpmu), acétochlore, acétochlore ESA, acétochlore OA, alachlore, amétryne, atrazine, atrazine 2 hydroxy, azoxystrobine, bentazone, carbendazime, carbétamide, carbofuran, chlorotoluron, chlorsulfuron, cyanazine, cyromazine, DEA, DIA, dichlofluanide, dichlorvos, diflufénican, dimétachlore, diméthoate, diuron, DMSA, DMST, fénarimol, flazasulfuron, fluazifop-p-butyl, flusilazole, foramsulfuron, fosthiazate, hexazinone, hydroxysimazine, imidaclopride, irgarol(cybutrine), isoproturon, linuron, métalaxyl M, métamitrone, métazachlore, méthiocarbe, métolachlore, métolachlore ESA, métolachlore OA, métoxuron, metsulfuron-méthyl, monolinuron, nicosulfuron, norflurazon, prochloraz, prométhryne, propachlore, propazine, propiconazole, prosulfuron, pyméthroline, quizalofop-éthyl, quizalofop-p-téfuryl, simazine, terbutryne, terbutylazine, terbutylazine deséthyl, thiaméthoxam, tolylfluanide.

Pour les substances pharmaceutiques la liste de composés suivis est la suivante : alprazolam, amitryptiline, bromazépam, doxépine, fluoxétine, carbamazépine, clenbutérol, diazépam, imipramine, nordiazépam, diclofénac, gemfibrozil, ibuprofène, kétoprofène, naproxène.

4.4. Résultats

4.4.1. Contrôle qualité dichlorvos

Lors de la série d'analyse, les bonnes performances du couplage LC-MS/MS ont été contrôlées par l'injection de duplicats de solutions de standards contenant du dichlorvos et du dichlorvos D6 à deux niveaux de concentrations: 1 ng.g⁻¹ et 7 ng.g⁻¹. La première solution a servi à valider la sensibilité de l'appareil 0,2 pg/inj et à calculer le coefficient de réponse du dichlorvos par rapport au dichlorvos D6 pour la quantification par dilution isotopique. La deuxième solution sert de "pseudo inconnu" et permet de vérifier la justesse de la quantification. Les rendements de récupération sur ces deux solutions à 1 et 7 ng.g⁻¹ sont respectivement 98± 0,8% et 98 ±1,3%.

Afin d'évaluer d'éventuels problèmes de contamination, un triplicat de blanc protocole et un triplicat de blancs POCIS ont été analysés afin de quantifier une éventuelle contamination liée au processus de préparation des échantillonneurs, à l'échantillonnage ou lors du processus d'extraction. Aucune trace de dichlorvos n'a été détectée, excluant ainsi toute pollution quantifiable des échantillons lors du prélèvement ou de l'extraction.

Deux triplicats de cartouches de phase Oasis HLB supplémentés de façon à obtenir une concentration en dichlorvos de 0,2 ng.g⁻¹ et 2 ng.g⁻¹ ont été extraits et quantifiés afin de

déterminer la justesse du rendement d'extraction. Les rendements d'extraction sur les deux triplicats sont respectivement $105 \pm 12 \%$ et $96 \pm 9,7\%$. Les limites de quantification calculées pour les 2 triplicats sont de $98 \pm 31 \text{ pg.g}^{-1}$ pour la supplémentation en dichlorvos à $0,2 \text{ ng.g}^{-1}$ et de $106 \pm 40 \text{ pg.g}^{-1}$. La limite de quantification dans les échantillons supplémentés est donc d'environ $0,1 \text{ ng.g}^{-1}$ de phase OASIS HLB.

En prenant comme référence le taux d'échantillonnage défini précédemment pour le dichlorvos de $0,156 \text{ L.j}^{-1}$ et un temps d'exposition théorique des POCIS de 15 jours, la concentration quantifiable minimale extrapolé à partir des échantillons supplémentés dans le milieu est de 9 pg/L^{-1} .

4.4.2. Concentration en dichlorvos et LOQ

La première série d'analyse des POCIS immergés a mis en évidence de forts effets de matrice. L'ensemble des échantillons a donc été dilué par 10 dans du méthanol pour améliorer les performances analytiques. Malgré cette dilution, lors de l'analyse aucune trace de dichlorvos n'a pu être quantifiée.

En absence de dichlorvos dans les échantillons, les limites de quantification sur ces échantillons ont été calculées sur l'étalon interne, le dichlorvos D6. La LOQ moyenne sur l'ensemble des échantillons est de $1,26 \pm 0,55 \text{ ng/g}$ de phase POCIS, soit $0,36 \pm 0,16 \text{ ng/L}$ pour un Rs de 0,156 et 22 jours d'exposition (temps moyen d'exposition sur la campagne).

Afin de confirmer ces limites de quantifications obtenues à partir de l'étalon interne, des ajouts dosés ($0,5 \text{ ng/POCIS}$) ont été réalisés sur les extraits de POCIS. Ces ajouts dosés ont permis de définir une limite de quantification de $0,51 \pm 0,06 \text{ ng/g}$, soit $0,15 \pm 0,02 \text{ ng/L}$ pour un Rs de 0,156 et 22 jours d'exposition (temps moyen d'exposition sur la campagne).

4.4.3. Résultats des analyses de pesticides et composés pharmaceutiques

Lors de l'analyse des pesticides et des substances pharmaceutiques par LC/MS-MS des contrôles qualité équivalent à ceux mis en œuvre pour le dichlorvos ont été réalisés (blancs protocoles, échantillons supplémentés, contrôles qualité machine, blancs d'injection).

Sur les 83 molécules recherchées (68 pesticides et 15 pharmaceutiques), 31 molécules ont été détectés sur au moins un des sites (27 pesticides et 4 pharmaceutiques). Les données générées en ng.g^{-1} de phase ont été transformés en ng/L par l'approche PRC (Performance Reference Compounds) et grâce au taux d'échantillonnage générés par les travaux cadre de [A. Belles \(2012\)](#), [N. Desgrange \(2015\)](#) et [V. Dufour \(2017\)](#). La synthèse des données en ng.g^{-1} et en ng/L sont présentées dans les [tableaux 6 et 7](#).

La [figure 14](#) présente les concentrations mesurées par les différents dispositifs lors des deux campagnes (Inox/Cuivre).

Tableau 6 : Composés quantifiés : pesticides et pharmaceutiques (en bleu) sur les différents sites. Concentrations des réplicats exprimées en ng/g.

Campagne 2018

Campagne 2019

LOQ (ng/g)		LAZARET cage inox 21 jours (ng/g)			LAZARET "boîte" cuivre 21 jours (ng/g)			LAZARET cage inox 23 jours (ng/g)			LAZARET "boîte" cuivre 23 jours (ng/g)			LAZARET "boîte" cuivre 44 jours (ng/g)	LAZARET cage inox 44 jours (ng/g)	Le LAS cage inox 21 jours (ng/g)	Le LAS Rade Cage Cu 21 jours (ng/g)
		Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 1	Rep 1	Rep 1
Temps immersion (j)	21	20,99	20,99	20,99	20,99	20,99	20,99	22,98	22,98	22,98	22,98	22,98	22,98	43,98	43,98	21	20,98
DCPU	5,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	11,9	11,9	<LOQ	<LOQ
DCPMU	4,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	8,7	5,5	<LOQ	<LOQ
amétryne	0,2	0,6	0,6	0,6	0,4	0,5	0,4	0,3	0,4	0,5	0,3	0,4	0,3	1,3	1,5	<LOQ	0,3
atrazine	1,1	13,3	15,2	14,3	8,4	9,6	8,2	5,4	8,8	10,5	7,2	7,1	5,7	26,4	23,8	5,4	6,1
atrazine 2 hydroxy	1,9	4,7	2,9	3,8	5,0	4,6	2,9	<LOQ	2,7	3,8	2,4	2,7	2,8	4,5	4,8	4,2	<LOQ
carbendazime	2,2	7,7	12,3	10,0	6,2	6,8	4,1	4,3	3,4	4,3	2,3	4,0	2,5	12,4	14,8	8,2	<LOQ
chlorotoluron	0,1	0,9	1,1	1,0	0,6	0,6	0,6	0,4	0,5	0,5	0,3	0,6	0,4	1,7	1,5	<LOQ	0,4
DEA	3,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	9,9	<LOQ
diuron	0,2	16,6	20,7	18,7	10,7	11,6	8,9	5,5	8,4	10,3	4,7	7,7	5,9	44,9	26,8	26,6	1,9
DMSA	0,0	4,3	2,7	3,5	3,9	4,3	2,2	1,0	2,7	3,4	1,1	1,3	1,7	5,9	3,2	2,0	0,5
DMST	0,1	6,9	9,7	8,3	3,9	4,6	4,9	3,1	4,6	5,7	2,8	3,6	2,8	17,1	11,9	1,8	1,3
imidaclopride	0,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,7	<LOQ
Irgarol	0,1	2,6	3,0	2,8	1,7	1,8	1,4	0,9	1,6	2,0	0,8	1,3	1,1	6,6	4,9	<LOQ	0,4
isoproturon	0,1	0,5	0,3	0,4	0,3	0,2	0,4	<LOQ	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	1,1	0,7	<LOQ	0,2
métalaxyl	0,5	0,6	<LOQ	0,3	0,6	0,7	2,0	0,7	2,2	2,0	1,6	1,8	1,5	3,2	2,5	<LOQ	<LOQ
métazachlore	0,1	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	<LOQ	0,1	0,1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,4	0,4	0,1	<LOQ
métolachlore	2,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,0	3,0	<LOQ	<LOQ
métolachlore ESA	3,2	9,8	6,5	8,1	7,3	7,2	5,8	3,7	8,0	4,9	3,8	4,0	3,2	9,5	22,0	<LOQ	4,7
métolachlore OA	2,8	<LOQ	3,3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3,3	3,1	<LOQ	<LOQ
métoxuron	0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,8	<LOQ
prométhryne	0,1	0,5	0,6	0,6	0,4	0,4	0,3	0,2	0,4	0,5	0,3	0,4	0,3	1,3	1,0	<LOQ	0,3
propazine	0,9	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,1	1,5	<LOQ	<LOQ
propiconazole	1,1	5,1	8,4	6,8	3,9	3,9	3,3	2,4	4,0	5,5	2,0	3,4	2,3	19,8	12,9	5,1	<LOQ
simazine	2,0	2,7	4,6	3,6	<LOQ	2,9	2,1	<LOQ	2,1	2,5	<LOQ	<LOQ	2,3	11,1	8,0	9,2	2,1
terbutryne	1,4	3,3	4,5	3,9	2,3	2,5	1,5	<LOQ	1,5	2,0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	8,5	6,1	5,1	<LOQ
terbutylazine	1,3	2,0	2,1	2,1	1,5	1,7	1,4	<LOQ	<LOQ	1,4	<LOQ	1,3	<LOQ	5,2	2,5	1,7	<LOQ
terbutylazine déséthyl	0,3	1,8	3,0	2,4	2,0	2,2	1,9	1,1	1,5	1,8	1,3	1,2	1,0	4,2	4,9	16,7	1,2
carbamazépine	0,5	4,6	4,9	4,8	1,9	3,2	2,2	1,2	1,7	4,0	2,1	3,0	2,5	10,5	8,7	59,4	2,3
diclofenac	1,6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	69,4	<LOQ
ibuprofene	1,3	5,0	3,9	4,4	2,4	3,9	3,4	1,6	0,5	1,8	1,0	4,1	2,7	3,5	14,8	476,8	1,5
naproxene	1,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	59,8	<LOQ

Tableau 7 : Composés quantifiés: pesticides et pharmaceutiques (en bleu) sur les différents sites. Concentrations moyennes (sauf pour la campagne 2019) exprimées en ng/L (valeurs en rouge= valeurs<LOQ c.f. Tab. 6, d'après directive: QA/QC directive 2009/90/EC, article 5: la valeur de concentration indiquée correspond à la LQ/2).

		Campagne 2018					Campagne 2019		
		LAZARET cage inox ng/L	LAZARET "boite" cuivre ng/L	LAZARET cage inox ng/L	LAZARET "boite" cuivre ng/L	LAZARET "boite" cuivre ng/L	LAZARET cage inox ng/L	Le LAS cage inox ng/L	Le LAS rade Cage cuivre ng/L
Tps immersion		21	21	23	23	44	44	21	21
nbre réplcats		3	3	3	3	1	1	1	1
nbre quantifiés (>LOQ)		22	21	21	18	26	26	19	14
LOQ ng/L		Moy	Moy	Moy	Moy				
0,49	DCPU	0,25	0,25	0,25	0,25	0,83	0,66	0,25	0,25
0,26	DCPMU	0,13	0,13	0,13	0,13	0,38	0,19	0,13	0,13
0,03	amétryne	0,11	0,08	0,05	0,04	0,12	0,11	0,01	0,03
0,08	atrazine	1,41	0,83	0,54	0,40	1,29	0,93	0,23	0,26
0,23	atrazine 2 hydroxy	0,69	0,70	0,29	0,28	0,37	0,32	0,30	0,11
0,43	carbendazime	2,67	1,61	0,72	0,51	1,72	1,64	1,00	0,22
0,01	chlorotoluron	0,15	0,09	0,05	0,04	0,13	0,09	0,004	0,02
2,73	DEA	1,37	1,37	1,37	1,37	1,37	1,37	4,81	1,37
0,02	diuron	1,93	1,07	0,56	0,40	2,34	1,11	1,21	0,09
0,01	DMSA	1,07	1,00	0,45	0,24	0,81	0,35	0,24	0,06
0,01	DMST	1,12	0,58	0,41	0,27	1,19	0,66	0,11	0,08
0,05	imidaclopride	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,43	0,02
0,01	Irgarol	0,26	0,15	0,09	0,06	0,30	0,18	0,004	0,02
0,02	isoproturon	0,09	0,05	0,02	0,02	0,11	0,06	0,01	0,02
0,02	métalaxyl	0,03	0,05	0,07	0,06	0,09	0,06	0,01	0,01
0,004	métazachlore	0,01	0,01	0,004	0,002	0,01	0,01	0,003	0,002
0,13	métolachlore	0,07	0,07	0,07	0,07	0,15	0,09	0,07	0,07
0,46	métolachlore ESA	1,84	1,37	0,79	0,48	0,99	1,83	0,23	0,44
0,33	métolachlore OA	0,23	0,17	0,17	0,17	0,27	0,21	0,17	0,17
0,03	métoxuron	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,08	0,02
0,01	prométhryne	0,05	0,03	0,02	0,02	0,06	0,03	0,01	0,01
0,10	propazine	0,05	0,05	0,05	0,05	0,16	0,09	0,05	0,05
0,04	propiconazole	0,35	0,19	0,14	0,09	0,53	0,28	0,12	0,02
0,40	simazine	0,96	0,58	0,37	0,20	1,54	0,89	1,12	0,25
0,10	terbutryne	0,39	0,22	0,10	0,05	0,44	0,25	0,23	0,05
0,08	terbutylazine	0,19	0,14	0,05	0,05	0,24	0,09	0,07	0,04
0,02	terbutylazine deséthyl	0,20	0,17	0,08	0,06	0,18	0,17	0,64	0,05
0,04	carbamazépine	0,58	0,29	0,18	0,19	0,62	0,41	3,08	0,12
0,12	diclofenac	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	3,24	0,06
0,13	ibuprofene	0,63	0,43	0,11	0,22	0,23	0,79	27,80	0,09
0,12	naproxene	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	3,10	0,06

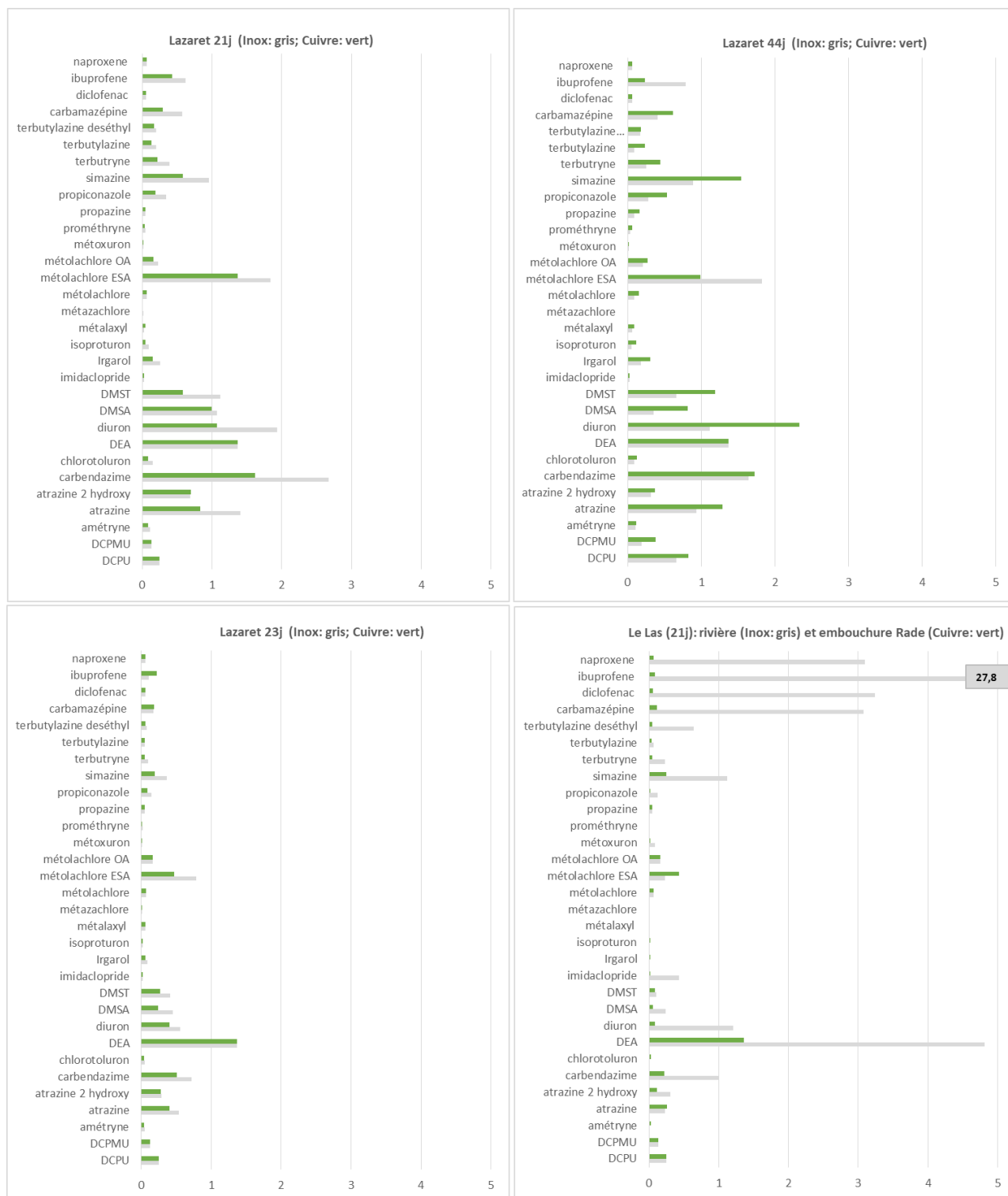


Figure 14 : Concentrations en ng/L mesurées par POCIS lors des 2 campagnes.

Dans l'ensemble (Tab. 7), les concentrations mesurées sont très faibles pour la plupart des composés (<3 ng/L) ou inférieures au LOQ pour de nombreuses substances (valeurs indiquées en rouge).

Lors de la campagne 1 (Fig. 14), c'est au cours de la première partie (21j) que les concentrations moyennes de la plupart des composés recherchés sont les plus élevées, quel que soit le dispositif). La deuxième partie (23j) se caractérise par les concentrations moyennes les plus faibles. Il y a peu de différences, en termes de concentrations, entre la première partie de campagne et celles intégrées sur 44 jours. Par contre, c'est après une exposition de 44 jours que le plus grand nombre de composés (26) a pu être quantifié (Tab. 7).

La rivière du Las (campagne 2) se caractérise par les concentrations les plus élevées de la plupart des composés (Fig. 14), notamment les composés pharmaceutiques et certains pesticides. Par contre, par rapport à la campagne 1, le nombre de substances quantifiées (19) est légèrement plus faible (Tab. 7). La station réalisée au débouché de la rivière du Las se caractérise, pour la majorité des composés, par les concentrations moyennes les plus basses (Fig. 14) et le nombre des substances quantifiées (14) le plus faible (Fig. 14).

4.4.4. Comparaison des dispositifs d'immersion (inox / cuivre)

En accord avec les données obtenues précédemment (Gonzalez *et al*, 2012), on constate visuellement l'effet antifouling évident du cuivre (retarde l'apparition du fouling) par rapport à l'inox. Cette première étude avait aussi montré que 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.

En ce qui concerne l'effet sur les concentrations mesurées lors de la campagne 1, sur le même site et pour des durées d'immersion identiques, on observe aussi la même tendance (sauf pour l'exposition de 44j) : les concentrations calculées sont plus élevées dans les POCIS en inox. Mais ces différences sont relativement faibles, aucune différence significative entre les concentrations n'avait été mise en évidence par le test de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$).

Ces données sont importantes car elles permettent 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 de type "boîte" en inox soit un bon compromis. 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.

La nouvelle géométrie de cage 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 pyrolysé).
- A la réception : stockage directement dans le congélateur jusqu'à la mise en place sur le terrain.
- Avant mise en place : pas de fixation des POCIS sur les supports.

- 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 boîtes isothermes.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le développement d'une méthodologie analytique spécifique pour l'analyse du dichlorvos par couplage LC/MS/MS a permis d'abaisser la limite de quantification de ce composé à 0,2 pg inj. Le couplage aux capacités de concentration des échantillonneurs passifs de type POCIS aurait pu théoriquement permettre l'amélioration de la LOQ pour la rendre compatible avec les performances demandées par les directives Cadre sur l'Eau (DCE) (2000/60/EC) et directive QA/QC (2009/90/CE) qui fixent une $NQ_{\text{eau douce}}$: 0,6 ng/L et une $NQ_{\text{eau marine}}$: 0,06 ng/L.

Cependant la confrontation de la méthodologie à des POCIS exposés en milieu naturel a mis en évidence de forts effets matrice, limitant fortement l'amélioration de la LOQ. Les LOQ obtenues sur des POCIS exposés en milieu naturel varient entre $0,15 \pm 0,02$ et $0,36 \pm 0,16$ ng/L en fonction du mode de calcul utilisé (extrapolation sur l'étalon interne ou ajout dosé). Dans l'état actuel, la méthodologie développée ne permet pas d'atteindre les performances nécessaires au suivi environnemental du dichlorvos en milieu marin, mais est juste suffisante pour le suivi en eau douce, sachant que cela dépendra fortement de la nature des échantillons et des effets matrices liés aux POCIS exposés.

Une étape de purification de l'extrait serait à développer pour lever les effets matriciels qui impactent les performances de la méthodologie d'analyse.

Les résultats de la poursuite des tests portant sur la nouvelle géométrie de cage POCIS confirment l'effet antifouling évident du cuivre par rapport à l'inox et confirment la première étude (Gonzalez *et al*, 2012): vis-à-vis du fouling des membranes POCIS, l'effet de la cage en cuivre est plutôt limité (par rapport à au matériau qui constitue les disques et les supports). Mais en ce qui concerne les concentrations, il n'y a pas de différences significatives entre les différents dispositifs.

Ces données sont importantes car elles vont permettre 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 de type "boîte" en inox soit un bon compromis.

6. BIBLIOGRAPHIE

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, 1640-8.

Aminot, Y., 2013. Etude de l'impact des effluents urbains sur la qualité des eaux de la Garonne estuarienne : application aux composés pharmaceutiques et aux filtres UV. Thèse en chimie analytique et environnement. Université de Bordeaux, 1-500.

Belles, A., 2012. Développement et applications environnementales des échantillonneurs passifs pour la surveillance des écosystèmes aquatiques. Thèse en Chimie Analytique. Université de Bordeaux. 1-470.

Belles, A., Tapie, N., Pardon, P., Budzinski, H., 2014b. Development of the performance reference compound approach for the calibration of 'polar organic chemical integrative sampler' (POCIS). *Anal. Bioanal. Chem.* 406, 1131-1140.

Booij, K., Vrana, B., Huckins, J.N., 2007. Chapter 7 Theory, modeling and calibration of passive samplers used in water monitoring, in: *Passive Sampling Techniques in Environmental Monitoring*. pp. 141-169.

Cruz, J., 2015. Etude de la contamination par les pesticides des milieux eau, air et sols: développement de nouveaux outils et application à l'estuaire de la Gironde. Thèse en Chimie Analytique et Environnementale. Université de Bordeaux. 1-481.

Desgranges, N., 2015. Développement d'échantillonneurs passifs de type POCIS pour l'évaluation de la contamination en pesticides des eaux de bassins versants languedociens 362.

Dufour, V., 2017. Identification des sources en pesticides en contexte urbain et développements d'échantillonneurs passifs de type POCIS. Application à la Métropole Bordelaise. Thèse en Chimie Analytique et Environnementale. Université de Bordeaux. 1-520.

Gonzalez J-L. Munaron D., Podeur C., Tapie N., Budzinski H., Maruszczak N., Montero N., Belzunce M-J (2012) Contribution au développement et à l'amélioration des techniques d'échantillonnage passif (DGT et POCIS). Rapport Final AQUAREF 2011, 61p.

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, 85-91.

INERIS 2017: <http://www.ineris.fr/substances/fr> (consulté le 16 juin 2017)

Mazzella, N., Debenest, T., Delmas, F., 2008. Comparison between the polar organic chemical integrative sampler and the solid-phase extraction for estimating herbicide time-weighted average concentrations during a microcosm experiment. *Chemosphere* 73, 545-50.

Mazzella, N., Dubernet, J.-F., Delmas, F., 2007. Determination of kinetic and equilibrium regimes in the operation of polar organic chemical integrative samplers. *J. Chromatogr. A* 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. *Environ. Sci. Technol.* 44, 1713-9.

PPDB 2017 : Pesticides Properties Database.

<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/Reports/220.htm> consulté le 19/03/2017

Vrana, B., Allan, I.J., Greenwood, R., Mills, G. a., Dominiak, E., Svensson, K., Knutsson, J., Morrison, G., 2005. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *TrAC Trends Anal. Chem.* 24, 845-868.

Wund, P., 2013. Développements d'échantillonneurs passifs pour l'étude de la contamination des eaux par les micropolluants organiques. Thèse en chimie analytique et environnement. Université Bordeaux. 1-319.