

MOTS CLEFS

Suivi environnemental;
Biotes; Moules;
Herbicides; QuEChERS;
Chromatographie en
phase liquide

RÉFÉRENCES

[1] Laurens, Y (2013) Directive Cadre sur l'Eau (DCE) à la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (DCSMM): Suivi des micropolluants dans le biote marin normand, réalisée à l'initiative de l'Agence de l'eau Seine Normandie. AESN, Septembre

[2] Basuyaux O., C. Caplat, S. Le Glatin & ML Mahaut, 2012. Utilisation d'*Hymeniacidon perlevis* comme bioindicateur de l'environnement littoral. Programme SPONTOX 2011-2012. Rapport technique : 145 p.

[3] Anastassiades M, Lehotay SJ, et al. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) approach for the determination of pesticide residues, 2002, European Pesticide Residues Workshop, EPRW, Rome, Book of Abstracts

[4] Lazartigues A, Wiest L, Baudot R, Thomas M, Feidt C, Cren-Olivé C. Multiresidue method to quantify pesticides in fish muscle by QuEChERS based extraction and LC-MS-MS. Anal Bioanal Chem (2011) 400: 2185-2193

Contexte

La surveillance des milieux aquatiques est une obligation réglementaire dans le cadre de deux directives (Directive cadre sur l'eau 2000/60/CE et directive cadre stratégie pour le milieu marin 2008/56/CE). Ainsi, des programmes de biomonitoring se sont développés afin d'évaluer les quantités et la distribution de certains contaminants dans les individus d'espèces choisies pour leurs particularités bioécologiques. Cette méthodologie est appliquée en France pour les métaux et quelques molécules organiques (HAP, PCB) au sein du Réseau d'Observation de la Contamination Chimique du milieu marin (ROCCM anciennement RNO) de l'IFREMER. Pour ce projet (2014-2016), 34 herbicides les plus susceptibles d'impacter le milieu ont été sélectionnés selon différents critères : leur quantité utilisée en Basse Normandie, leur toxicité potentielle et leur rémanence [1].

Zones d'études

Quatre sites de la côte normande :

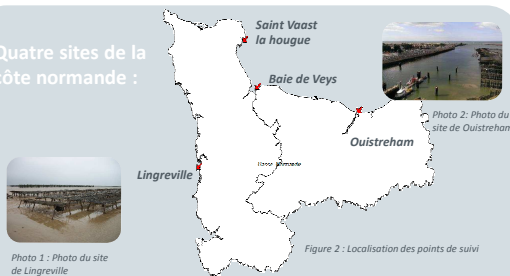


Photo 1 : Photo du site de Lingreville

Photo 2 : Photo du site de Ouistreham

Figure 2 : Localisation des points de suivi

Matériels et méthodes

3 espèces intégratrices sélectionnées :



Photo 3 : Hymeniacidon perlevis



Photo 4 : Mytilus Edulis



Photo 5 : Crassostrea gigas

Utilisation de cages pour certains sites



Planning de prélèvements :



Les biotes sont nettoyés, décoquillés, rincés et congelés à -20°C

Analyse par UPLC-MS/MS



Figure 1 : Étalonage linéaire du diflufenican

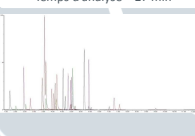
Division en deux analyses : la première de 32 molécules décrite par la suite et la seconde contenant spécifiquement le glyphosate et l'AMPA



Chaîne Waters Acquity UPLC couplée au spectromètre de masse en tandem Xevo TQ MS

- Colonne Acquity UPLC BEH C18 : 150 mm x 2,1, 1,7 µm (Waters®)
- Température du four : 40 °C
- Débit de la phase mobile : 0.40 ml/min

Temps d'analyse = 27 min



Gradient d'élution

Temps (min)	Flow (ml/min)	Flow (ml/min)
0	0.5	0.5
5	0.5	0.5
10	0.5	0.5
15	0.5	0.5
20	0.5	0.5
25	0.5	0.5
30	0.5	0.5
35	0.5	0.5
40	0.5	0.5
45	0.5	0.5
50	0.5	0.5
55	0.5	0.5
60	0.5	0.5
65	0.5	0.5
70	0.5	0.5
75	0.5	0.5
80	0.5	0.5
85	0.5	0.5
90	0.5	0.5
95	0.5	0.5
100	0.5	0.5

Préparation d'échantillons

Avant injection, transfert de 200 µl de l'extrait dans un flûtiler et ajout de 800 µl d'une solution d'acide formique à 0.05 % dans l'eau

Transfert de 2 mL du surnageant, ajout de 20 µl d'une solution d'acide formique à 5 % dans l'ACN. L'extrait est conservé au congélateur (-20 °C)

Transfert de 6 mL de la phase supérieure (ACN) dans un tube de purification dSPE. Agitation pendant 1 min au vortex puis centrifugation (3000 rpm, 4 min, 4°C)

Centrifugation (3000 rpm, 4 min, 4°C)



Broyage à l'ultraturax ou au broyeur à couteaux pour les éponges

Pesée de 10 g d'échantillon et ajout des étalons internes

Ajout de 10 mL d'acétonitrile et agitation pendant 1 min

Ajout du sachet d'extraction QuEChERS (Méthode EN) puis agitation pendant 1 min

Centrifugation (3000 rpm, 4 min, 4°C)

Caractérisation de méthode

Suivi des recommandations du guide LAB GAT 26 (Décembre 2010) et des prescriptions de la norme NF V 03-110 (2010)

Détermination des taux de récupération : 100% des molécules ont un rendement moyen compris entre 80 et 120%

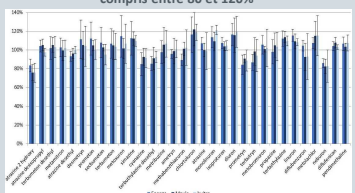


Figure 2 : Rendements moyens (n=4) pour chaque matrice à 10 µg/kg poids frais

Détermination des profils d'exactitude pour l'ensemble des molécules à minimum deux niveaux (LQ = limite de quantification et LMR = Limite maximale en résidus)

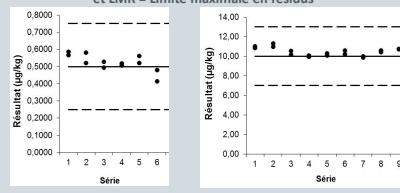


Figure 3 : Résultats de la caractérisation de méthode du diflufenican à la limite de quantification (0.5 µg/kg de poids frais) et à la LMR par défaut c'est-à-dire à 10 µg/kg PF

Détermination de la limite de quantification pour chaque molécule

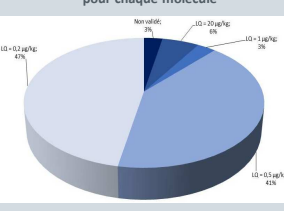
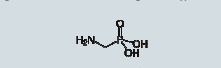
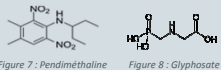
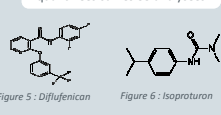


Figure 4 : Pourcentage des molécules validées en fonction de leur limite de quantification (LQ)

Résultats

Présence de 5 molécules quantifiées sur les 33 analysées



Sélection des espèces intégratrices

Les concentrations dans les moules et les huîtres sont plus élevées pour le diflufenican, l'isoproturon et la pendiméthaline.

	Site A			Site B			Site C			Site D		
	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges
sept-14	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
oct-14	0.8	2.2	0.5	<0.5	1.6	<0.5	1.3	1.9	<0.5	3.1	5.1	<0.5
nov-15	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.8	<0.5	0.5	1.9	<0.5	2.3	3.0	<0.5
avr-15	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.7	1.1	<0.5	4.7	-	-
mai-15	1.4	3.4	<0.5	0.5	0.8	0.5	0.9	0.9	<0.5	1.0	-	-
juin-15	0.8	0.8	<0.5	0.8	1.0	0.7	1.2	1.6	0.5	1.1	0.8	-
sept-15	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5

Tableau 1 : Résultats en pendiméthaline pour les trois espèces et les quatre sites en µg/kg de poids frais. Les tirets dans le tableau représentent les cages vandalisées lors de l'étude

Les concentrations dans les éponges sont plus élevées pour le glyphosate et l'AMPA

	Site A			Site B			Site C			Site D		
	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges
sept-14	<10	<10	<10 (12.39)	<10	<10	<10 (12.39)	<10	<10	<10	<10	<10 (10.00)	<10
oct-14	<10	<10 (12.39)	<10 (12.39)	<10	<10	<10 (12.39)	<10	<10	<10	<10	<10 (10.00)	<10
nov-15	<10 (10.00)	<10	<10 (10.00)	<10	<10	<10 (10.00)	<10	<10	<10	<10	<10 (10.00)	<10
avr-15	<10	<10 (10.00)	<10	<10	<10 (10.00)	<10	<10	<10 (10.00)	<10	<10	<10 (10.00)	<10
mai-15	<10	<10	<10 (10.00)	<10	<10	<10 (10.00)	<10	<10	<10	<10	<10 (10.00)	<10
juin-15	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
sept-15	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 (10.00)

Tableau 2 : Résultats en Acide aminométhylphosphonique (AMPA) pour les trois espèces et les quatre sites en µg/kg de poids frais.

Réalisation de la surveillance du diflufenican avec la moule - Comparaison temporelle et spatiale de cet herbicide

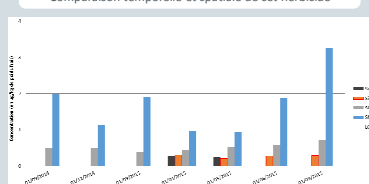


Figure 10 : Comparaison en diflufenican en fonction des lieux et des périodes de prélèvements dans la moule

Les concentrations les plus élevées en diflufenican sont observées sur le site D puis dans une moindre mesure sur le site C. Pour ces deux sites, les teneurs sont les plus fortes en septembre 2015

Flashez et contactez
Céline PASSIGNAT
celine.passignat@laboratoire-labeo.fr



Conclusion

Ces espèces intégratrices constituent un outil de surveillance bien adapté pour les herbicides les plus susceptibles d'impacter le milieu. Les données collectées lors de cette étude montrent la complémentarité des espèces selon la nature des molécules suivies. Les huîtres, les moules et les éponges pourraient ainsi être utilisées comme espèces sentinelles dans le cadre d'un réseau de surveillance des pesticides les plus utilisés en Normandie. Ces espèces sont présentes dans de nombreux secteurs du littoral ou, à défaut, pourraient être placées dans des cages.